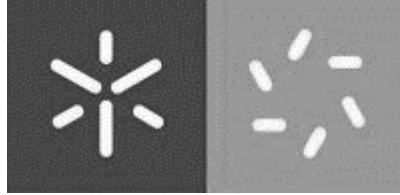


Universidade do Minho
Escola de Ciências

Rosana Gomes Monteiro

**Variações espaço-temporais na
condição fisiológica da espécie
invasora *Corbicula fluminea***



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Rosana Gomes Monteiro

Variações espaço-temporais na condição
fisiológica da espécie invasora *Corbicula
fluminea*

Mestrado em Ecologia

Trabalho efetuado sob a orientação de
Professor Doutor Ronaldo Gomes de Sousa

e coorientação de
Doutora Martina Di Iulio Ilarri

Janeiro 2017

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar às instituições nas quais o trabalho foi desenvolvido, nomeadamente ao Departamento de Biologia da Universidade do Minho, ao CIIMAR - Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental e ao Aquamuseu do Rio Minho.

Ao meu orientador Ronaldo Sousa e coorientadora Martina Ilarri, por me terem dado a oportunidade de trabalhar com eles, por todo o apoio que me deram ao longo do ano e pela orientação durante o desenvolvimento desta dissertação de mestrado.

Ao Pedro, por me ter acompanhado ao longo das várias fases deste trabalho e por todo a disponibilidade e ajuda.

Ao Rui, pelo companheirismo, por todo o incentivo e força para alcançar os meus objectivos. Mas acima de tudo, por sempre acreditar em mim.

Aos meus pais, por estarem sempre presentes e sempre me terem apoiado e incentivado a seguir os meus sonhos. Tudo o que sou e alcancei devo-o a eles.

Por fim, à minha família e amigos por todo o apoio que me foi dado nesta fase da minha vida.

Resumo

Bivalves são um dos grupos faunísticos de maior potencial invasor em ecossistemas de água doce sendo a amêijoia Asiática *Corbicula fluminea* um exemplo dessas espécies. Existem vários impactos económicos e ecológicos associados a esta espécie. Em Portugal, *C. fluminea* encontra-se presente em pelo menos onze bacias hidrográficas onde o grau de invasão é distinto. Assim sendo, é importante a avaliação do estado ecofisiológico em que se encontram as populações de amêijoia Asiática em bacias hidrográficas que a espécie invadiu com diferentes graus de sucesso. No entanto, nenhum estudo até à data comparou as mudanças sazonais nos índices de condição e na composição bioquímica da espécie *C. fluminea* em Portugal. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivos principais: 1) avaliar as diferenças espaço-temporais na condição ecofisiológica e composição bioquímica de indivíduos de *C. fluminea* nos Rios Lima e Minho; e 2) estimar através de manipulações em condições naturais (Rio Minho) o efeito da competição intra-específica na condição ecofisiológica de indivíduos de *C. fluminea*. Para isto, foram calculados dois índices de condição e realizadas análises de proteína, lípidos e energia de indivíduos de *C. fluminea* colectados em diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. O efeito da competição intra-específica na condição fisiológica de *C. fluminea* foi avaliado através de manipulações em condições naturais utilizando três densidades diferentes (150 indivíduos/m², 500 indivíduos/m² e 1000 indivíduos/m²). Os índices de condição apresentaram diferenças na comparação entre estações do ano e entre rios sendo os valores mais elevados no verão (ambos os rios) e menores na primavera (Rio Lima) e inverno (Rio Minho). Nas análises bioquímicas, as proteínas tiveram maior variação sazonal e espacial quando comparado com lípidos e energia. Estes resultados sugerem que o ciclo reprodutivo de *C. fluminea* pode ter tido uma influência nos resultados dos índices de condição e da composição bioquímica, seguido pela disponibilidade de alimento e temperatura nos diferentes rios. Em relação à experiência manipulativa, observou-se um aumento dos índices de condição entre os 150 e os 500 indivíduos/m² e uma diminuição/estabilização nos 1000 indivíduos/m². De uma forma geral, os resultados sugerem que os indivíduos alcançaram uma melhor condição quando submetidos a densidades intermediárias (500 indivíduos/m²), sendo que para densidades de 1000 indivíduos/m² poderá ocorrer uma maior competição por espaço e alimento.

Abstract

Bivalves are one of the faunal groups with the greatest potential for invasion in freshwater ecosystems, being the Asian clam *Corbicula fluminea* a good example of these species. There are many economic and ecological impacts associated with this species. In Portugal, *C. fluminea* is present in at least eleven river basins, being the degree of invasion distinct. Therefore, it is important the evaluation of the ecophysiological state of distinct Asian clam populations subjected to different invasive behaviours. However, no study, until now, compared the seasonal changes in the condition index and biochemical composition of the *C. fluminea* in Portugal. In this context, the main goals of this study were to: 1) evaluate spatial and temporal differences in the ecophysiological condition and biochemical composition of individuals of *C. fluminea* in Rivers Lima and Minho; and 2) assess, through manipulations under natural conditions (River Minho), the effect of intra-specific competition on the ecophysiological condition of *C. fluminea* individuals. For this, two condition indices were calculated and analyzes of proteins, lipids and energy of individuals of *C. fluminea* collected in different seasons of the year (winter, spring and summer) in Rivers Lima and Minho were performed. The effect of intra-specific competition on the physiological condition of *C. fluminea* was evaluated by manipulations under natural conditions of three different densities (150 individuals/m², 500 individuals/m² and 1000 individuals/m²). The condition indices presented differences in the comparison between seasons and between rivers with higher values in the summer (both rivers) and lower in the spring (River Lima) and winter (River Minho). In the biochemical analyzes, proteins showed the greatest seasonal and spatial variation when compared to lipids and energy. These results suggest that the reproductive cycle of *C. fluminea* may have had an influence on the results of the condition indices and biochemical composition, followed by food availability and temperature in the different rivers. In relation to the manipulative experiment, there was an increase in the condition indices between 150 and 500 individuals/m² and a decrease/stabilization in the density of 1000 individuals/m². In general, the results suggest that the individuals reached a better condition when submitted to intermediate densities (500 individuals/m²), and for densities of 1000 individuals/m² a greater competition for space and food may occur.

Índice

Agradecimentos.....	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Lista de figuras	xiii
Lista de tabelas	xvii
1. Introdução	
1.1. Ameaças aos ecossistemas aquáticos	3
1.2. Espécies invasoras	4
1.3. Bivalves invasores com especial ênfase em <i>Corbicula fluminea</i>	6
1.4. <i>Corbicula fluminea</i> em Portugal e objectivos	9
2. Materiais e Métodos	
2.1. Área de estudo	15
2.1.1. Rio Lima	15
2.1.2. Rio Minho.....	16
2.2. Amostragem e análises laboratoriais	18
2.2.1 Diferenças espaço-temporais na condição fisiológica de indivíduos de <i>C. fluminea</i>	18
2.2.1.1. Dados ambientais	18
2.2.1.2. Densidade e tamanho médio das populações	19
2.2.1.3. Índices de condição.....	19
2.2.1.4. Composição bioquímica	20
2.2. Avaliação da competição intra- específica na condição fisiológica de indivíduos de <i>C. fluminea</i> ...	20
2.3. Análise estatística de dados	22
3. Resultados	
3.1. Diferenças espaço-temporais na condição fisiológica de indivíduos de <i>C. fluminea</i>	25

3.1.1 Dados Ambientais	25
3.1.2. Densidade e tamanho médio das populações	27
3.1.3. Índices de condição.....	28
3.1.4. Composição Bioquímica	30
3.2. Avaliação da competição intra- específica na condição fisiológica de indivíduos de <i>C. fluminea</i> ...	33
4. Discussão	
4.1. Diferenças espaço-temporais na condição fisiológica de indivíduos de <i>C. fluminea</i>	37
4.2. Avaliação da competição intra- específica na condição fisiológica de indivíduos de <i>C. fluminea</i> ...	41
Referências bibliográficas	45

Lista de figuras

- Figura 1:** Mapa do Estuário do Rio Lima, mostrando o local de amostragem (assinalado com seta).
Modificado de Sousa et al. (2006)..... 16
- Figura 2:** Mapa do Estuário do Rio Minho, mostrando o local de amostragem (assinalado com seta).
Modificado de Mota et al. (2014)..... 17
- Figura 3:** Mapa do Estuário do Rio Minho, mostrando o local de amostragem (assinalado com seta).
Modificado de Mota et al. (2014)..... 21
- Figura 4:** Análise de componentes principais mostrando as diferenças nas variáveis ambientais ao longo das estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. Os dois primeiros eixos explicam 70,6% da variância (PC1=43,1% e PC2=27,5%). 27
- Figura 5:** Valor médio (\pm Desvio padrão) do índice de condição 1 (IC 1) de indivíduos de *Corbicula fluminea* coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão). Diferentes letras indicam diferenças no valor do índice de condição na comparação entre os rios (letras minúsculas) e ao longo das estações do ano (letras maiúsculas) (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,05$). 28
- Figura 6:** Valor médio (\pm Desvio padrão) do índice de condição 2 (IC 2) de indivíduos de *Corbicula fluminea* coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão). Diferentes letras indicam diferenças no valor do índice de condição na comparação entre os rios (letras minúsculas) e ao longo das estações do ano (letras maiúsculas) (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,05$). 29
- Figura 7:** Percentagem de proteína ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. Diferentes letras indicam diferenças entre os rios (letras minúsculas) e ao longo das estações do ano (letras maiúsculas) (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,05$). 32
- Figura 8:** Percentagem de lípidos ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. Diferentes letras indicam diferenças ao longo das estações do ano no Rio Minho (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,05$). 32

Figura 9: Percentagem de energia ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. Diferentes letras indicam diferenças ao longo das estações do ano no Rio Minho (testes <i>pairwise two-way</i> PERMANOVA; $P < 0,01$).....	33
Figura 10: Valor médio (\pm Desvio padrão) do índice de condição 1 (IC 1) de indivíduos de <i>Corbicula fluminea</i> submetidos a diferentes densidades de <i>C. fluminea</i> (150, 500 e 1000 indivíduos/m ²). Diferentes letras indicam diferenças entre os tratamentos (testes <i>pairwise one-way</i> PERMANOVA; $P < 0,05$)	34
Figura 11: Valor médio (\pm Desvio padrão) do índice de condição 2 (IC 2) de indivíduos de <i>Corbicula fluminea</i> submetidos a diferentes densidades de <i>C. fluminea</i> (150, 500 e 1000 indivíduos/m ²). Diferentes letras indicam diferenças entre os tratamentos (testes <i>pairwise one-way</i> PERMANOVA; $P < 0,05$)	34

Lista de tabelas

Tabela 1: Primeiros registos de <i>Corbicula fluminea</i> nas bacias hidrográficas portuguesas invadidas pela espécie. Adaptado de Rosa et al. (2011).	9
Tabela 2: Valores médios (\pm Desvio padrão) dos parâmetros físico-químicos (temperatura, condutividade, total de sólidos dissolvidos (TDS), salinidade, oxigénio, pH e profundidade) medidos nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão). ...	25
Tabela 3: Percentagem (\pm Desvio padrão) da granulometria do sedimento e da matéria orgânica (\pm Desvio padrão) presente no sedimento recolhido nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão).	26
Tabela 4: Densidade e comprimento médio (\pm Desvio padrão) de indivíduos de <i>Corbicula fluminea</i> coletados nos Rios Lima e Minho durante as diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão).	28
Tabela 5: Resultados da <i>Two-way</i> PERMANOVA do índice de condição 1 de indivíduos de <i>Corbicula fluminea</i> coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão); ns= valor não significativo.	29
Tabela 6: Resultados da <i>Two-way</i> PERMANOVA do índice de condição 2 de indivíduos de <i>Corbicula fluminea</i> coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão); ns= Valor não significativo.	30
Tabela 7: Constituição da parte mole fresca (% de água e de matéria seca) e da parte mole seca (% de matéria orgânica e de matéria inorgânica) de indivíduos de <i>Corbicula fluminea</i> coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão).	30
Tabela 8: Resultados da <i>Two-way</i> PERMANOVA das análises bioquímicas de proteína, lípidos e energia. Comparando os Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão); ns= valor não significativo.	31

1.Introdução

1.1. Ameaças aos ecossistemas aquáticos

A água doce é um recurso fundamental para a vida humana e produtividade económica (Hanjra & Qureshi, 2010). Na verdade, os ecossistemas de água doce fornecem múltiplos serviços aos seres humanos, incluindo o provisionamento de água, energia e transportes; serviços culturais como recreação, turismo e religião; a manutenção da qualidade da água e o controlo de inundações e erosão; a manutenção da biodiversidade; e a regulação do ciclo de nutrientes e produção primária e secundária (Aylward et al., 2005). No entanto, os ecossistemas de água doce estão entre os mais modificados antropogenicamente (Carpenter et al., 2011), e são excecionalmente vulneráveis a mudanças climáticas (Woodward et al., 2010). As atividades humanas que causam poluição, perda, fragmentação e/ou degradação de habitat, sobre-exploração de recursos, alterações dos caudais e invasões biológicas são ameaças comuns aos ecossistemas de água doce em todos os continentes (Malmqvist & Rundle, 2002; Dudgeon et al., 2006) e contribuem para a degradação e perturbação destes ecossistemas. Existem já evidências preocupantes de que os seres humanos têm ultrapassado os limites do planeta para processos essenciais (Rockström et al., 2009) e esta situação poderá ter consequências prejudiciais ou mesmo desastrosas para a humanidade. Alguns limites parecem já ter sido transgredidos no que diz respeito às alterações climáticas, alterações dos ciclos de azoto e fósforo globais e perda de biodiversidade (Rockström et al., 2009).

Embora os ecossistemas de água doce ocupem uma porção relativamente pequena da superfície da Terra têm um papel desproporcional na biodiversidade global (Downing et al., 2006; Raymond et al., 2013). As aproximadamente 125.000 espécies de animais de água doce descritas até agora representam 9,5% de todas as espécies animais conhecidas no planeta e 1/3 de todas as espécies de vertebrados (Dudgeon et al., 2006; Balian et al., 2008). Devido ao rápido crescimento da população humana e da economia global as pressões humanas sobre esta biodiversidade têm aumentado exponencialmente (Dudgeon et al., 2006; Ehrlich & Pringle, 2008; Rockström et al., 2009). Na verdade, os ecossistemas de água doce têm as maiores taxas de perda de biodiversidade a nível global e há uma crescente perceção de que, em termos de risco de extinção, as espécies de água doce estão entre as mais ameaçadas (Dudgeon et al., 2006; Ormerod et al., 2010; Strayer & Dudgeon, 2010). Aproximadamente, entre 10.000 e 20.000 das espécies de água doce, já se encontram extintas ou em perigo como resultado das atividades humanas (Strayer, 2006; IUCN, 2007). Mesmo nos casos de espécies que ainda não tenham desaparecido por completo, as atividades humanas têm eliminado muitas populações ou põem em causa a viabilidade futura de muitas espécies (Strayer, 2008). Esta

perda de biodiversidade pode ser responsável por alterações no funcionamento dos ecossistemas que prejudicam o fornecimento de bens e serviços e limitam o potencial de adaptação a futuras mudanças (Hooper et al., 2005; Woodward, 2009; Mace et al., 2010).

Embora as atividades dos seres humanos sejam responsáveis pela extinção de várias espécies em ecossistemas aquáticos também podem ser responsáveis pela introdução de centenas de outras (FAO, 2008), dezenas das quais (por exemplo, jacinto de água, mexilhão zebra, perca do Nilo) têm impactos ecológicos graves e duradouros (Strayer, 2010). A invasão de espécies é agora reconhecida como um importante fator de mudança global do meio ambiente (Vitousek et al., 1996; Mack et al., 2000) e os ecossistemas aquáticos são especialmente vulneráveis à invasão de espécies e aos seus efeitos (Sala et al., 2000). Dentro dos ecossistemas aquáticos, os estuários são ecossistemas de alta produtividade, importantes no ciclo de vida de muitos organismos aquáticos (McLusky, 1989), mas são igualmente extremamente frágeis e altamente perturbados. Os habitats estuarinos encontram-se em risco crescente devido à invasão de espécies (Cohen & Carlton, 1998; Ruiz et al., 2000), como resposta ao aumento da globalização e consequente aumento do número de indivíduos transportados (Carlton, 1996).

1.2. Espécies invasoras

As invasões biológicas são uma componente significativa da mudança global constituindo uma ameaça grave para a conservação da biodiversidade (Simberloff et al., 2013). Numerosos estudos têm resumido os impactos das espécies invasoras ao nível individual, da população, da comunidade e do ecossistema (Ehrenfeld, 2010; Simberloff, 2011; Sousa et al., 2011; Strayer, 2012) e outros têm destacado os grandes impactos económicos gerados por estas espécies (Pimentel et al., 2000; Vilà et al., 2009). A importância deste assunto tem levado a um aumento do número de estudos sobre invasões biológicas nas recentes décadas (Richardson & Pyšek, 2008). Além disso, a gestão dos problemas gerados por espécies invasoras é agora um dos maiores desafios em conservação e há uma pressão crescente sobre os decisores políticos para regular e atenuar esta componente de mudança global (Hulme et al., 2009).

Os ecossistemas aquáticos não estão imunes a este fenómeno e também eles foram submetidos a centenas de introduções (Strayer, 2010). A propagação destas espécies é um dos principais contribuintes para a homogeneização biótica (Rahel, 2002), extinção de espécies nativas e

consequente redução da biodiversidade global (Olden, 2006; Strayer, 2010) e alteração do funcionamento dos ecossistemas (Dudgeon et al., 2006).

Atividades humanas como, o comércio, a aquacultura, a construção de canais, a pesca desportiva e as atividades recreativas transportam, deliberadamente ou acidentalmente, estas espécies pelo mundo inteiro (Cohen & Carlton, 1998; Kolar & Lodge, 2002). A principal via global pela qual as espécies aquáticas invasoras são introduzidas é o tráfego de navios (via águas de lastro, sedimentos e bioincrustações) sendo este tráfego um vetor eficiente que permite às espécies não-nativas superarem as barreiras biogeográficas (Molnar et al., 2008). De acordo com Molnar et al. (2008), mais de 80% de todas as invasões aquáticas identificadas foram involuntárias e 31% ocorreram através das águas de lastro. Adicionalmente, e dadas as características naturais destes ecossistemas que incluem capacidade inata de dispersão dos organismos aquáticos, a elevada conectividade aumenta ainda mais a sua vulnerabilidade (Bij de Vaate et al., 2002; Muirhead & MacIsaac, 2005; Minchin, 2007; Gherardi et al., 2008).

A invasão de espécies é um processo de múltiplos estágios, composto pelo transporte e introdução de organismos num novo habitat, estabelecimento de populações auto-sustentáveis no novo habitat e propagação secundária do organismo a novos habitats (Kolar & Lodge, 2001). No entanto, apenas uma fracção das espécies introduzidas se estabelece ou invade com sucesso um novo sistema (Caley et al., 2008). Ter ou não sucesso invasor após o transporte depende de como as características biológicas equipam determinada espécie para o rigor do novo ambiente; da capacidade de reprodução e dispersão dessa espécie; das interações biológicas com o biota endémico e de um conjunto de fatores externos, incluindo a pressão dos propágulos ("*propagule pressure*") (Richardson & Pyšek, 2006; Van Kleunen et al., 2010; Pyšek & Richardson, 2008), e também da semelhança do clima e habitat entre a região nativa e a invadida. Por outro lado algumas comunidades e/ou ecossistemas são mais invadidos do que outros, dependendo do nível de recursos disponíveis no momento da invasão, que poderá também estar intimamente ligado com o nível de perturbação existente e presença de herbívoros, patogénios e predadores que podem atuar como um constrangimento ao estabelecimento de novas espécies (Davis et al., 2000). O fator chave é a taxa de sobrevivência das espécies introduzidas na comunidade (Lonsdale, 1999). O nível de invasão de uma comunidade é resultado da interação entre a sua suscetibilidade inerente a ser invadida e a pressão do propágulo a que está exposta (Lonsdale, 1999; Davis et al., 2000; Richardson & Pyšek, 2006). Se a pressão do propágulo for suficientemente alta, mesmo as comunidades moderadamente resistentes podem ser invadidas (D'Antonio et al., 2001).

Uma das principais preocupações relacionadas com as invasões biológicas é o seu impacto nos organismos nativos e nos processos e funções dos ecossistemas. A introdução e o estabelecimento de espécies invasoras pode provocar mudanças dramáticas nos ecossistemas através de perturbações nas interações biológicas (competição interespecífica, interações predador-presa, parasitas), na estrutura da cadeia alimentar, produção primária e secundária, ciclo de nutrientes, ciclo hidrológico e taxas de sedimentação (Cox, 1999; Simberloff, 2005; Tatem et al., 2006). Todavia, algumas espécies invasoras podem interagir positivamente com espécies nativas, fornecendo recursos alimentares e habitat para espécies raras (Schlaepfer et al., 2011). Em algumas circunstâncias, as espécies invasoras podem comportar-se como uma espécie fundadora ao criar habitats e/ou modificar as condições ambientais, assim como modificar as interações entre espécies e a disponibilidade de recursos nos ecossistemas invadidos (Bruno & Bertness, 2001; Crooks, 2002). Muitos destes impactos resultam igualmente em prejuízos económicos importantes (Pimentel et al., 2000; Vilà et al., 2009).

A pesquisa sobre espécies invasoras em sistemas de água doce é fundamental, uma vez que estes ecossistemas estão em perigo e fornecem vários serviços importantes (Dudgeon et al., 2006). Prevenir introduções de espécies invasoras é provavelmente a estratégia mais eficiente para reduzir os danos associados, e é uma componente-chave dos programas de gestão e mitigação dos seus impactos (Leung et al., 2002; Ricciardi & MacIsaac, 2008). Entre os vários grupos taxonómicos que foram introduzidos em ecossistemas de água doce, os impactos ecológicos e económicos associados a bivalves estão bem documentados (Keller et al., 2007; Strayer, 2010). Os custos económicos e ambientais de bivalves de água doce invasores estão a aumentar em todo o mundo, assim, como o número de espécies transportadas para além da sua respetiva área de distribuição natural.

1.3. Bivalves invasores com especial ênfase em *Corbicula fluminea*

Os bivalves são um dos grupos faunísticos de maior potencial invasor em ecossistemas aquáticos (Sousa et al., 2014). Podem influenciar significativamente as comunidades biológicas e alterar a estrutura e funcionamento dos ecossistemas através de vários mecanismos (Gutiérrez et al., 2003; Sousa et al., 2009, 2014). Por outro lado, são amplamente reconhecidos pela sua factividade *biofouling* em indústrias dependentes de água, tais como barragens, sistemas de tratamento e distribuição de água, e fábricas de celulose e produção de papel (Connelly et al., 2007; Mackie & Claudi, 2009). Alguns bivalves invasores são importantes engenheiros do ecossistema, ou seja, são organismos capazes de mudar fisicamente o ambiente em que vivem, e, assim, modificando,

mantendo, e criando habitats (Jones et al., 1994). Os mecanismos de engenharia mais importantes através dos quais os bivalves influenciam os habitats estão relacionados com a filtração da água, bioturbação de sedimentos, e disponibilização de conchas (Sousa et al., 2009). Os bivalves sendo importantes filtradores podem ser responsáveis pelo controlo da composição e concentração de partículas em suspensão (Strayer, 1999). Além disto, produzem também grandes quantidades de fezes e pseudofezes, excretando elevadas quantidades de nutrientes inorgânicos, principalmente azoto inorgânico, (Asmus & Asmus, 1991), o que pode ter grandes efeitos sobre o habitat invadido, principalmente, por alterar os ciclos biogeoquímicos e promover a sedimentação (Prokopovich & Hebert, 1965; Roditi et al., 1997). Finalmente, a estrutura fornecida pelas conchas pode servir como um refúgio contra o stress biótico e abiótico, predação e competição, atenuar condições ambientais extremas, alterar fatores abióticos e proporcionar um substrato para a colonização de outras espécies (Gutiérrez et al., 2003; Sousa et al., 2009).

Atualmente, a amêijoia Asiática *Corbicula fluminea* é uma das espécies de bivalves invasores mais difundidas em ecossistemas aquáticos, estando listada como uma das 100 piores espécies invasoras na Europa (DAISIE, 2009). A amêijoia Asiática *C. fluminea* é nativa do sudeste da Ásia (Aldridge & Muller, 2001) e, na atualidade, encontra-se dispersa por quase todo o mundo (Crespo et al., 2015). Na América esta espécie está presente desde o sul da Patagónia até ao norte do Canadá, e na Europa, está presente desde Portugal à Roménia, incluindo o Reino Unido e Irlanda do Norte (Ilarri & Sousa, 2012). Recentemente, Clavero et al. (2012) descreveu a sua presença em Marrocos. A grande capacidade de *C. fluminea* para se dispersar (dado que os juvenis podem ser transportados por correntes fluviais, marés e também por aves e mamíferos; McMahon, 2000, 2002) e colonizar novos ambientes, combinada com a intensificação de atividades humanas (por exemplo, transporte de águas de lastro, utilização de espécimes como isco para a pesca, transporte de espécimes por turistas e transporte de sedimentos e/ou água entre os diferentes ecossistemas aquáticos com eventual transferência de pequenos juvenis ou adultos), explica a sua rápida disseminação em todo o mundo (Darrigran, 2002; McMahon, 2002). No entanto, ainda existem incertezas taxonómicas no género *Corbicula*, o que complica a descrição detalhada da distribuição das espécies dentro deste género nas áreas nativas e invadidas (Pigneur et al., 2011).

Em muitos casos, a espécie *C. fluminea* domina completamente as assembleias bentónicas, em termos de densidade e biomassa, em rios, lagos e partes superiores de estuários (Byrne et al., 2000). O seu sucesso invasor parece depender mais das suas características biológicas que incluem, curto ciclo de vida, rápido crescimento, maturidade sexual precoce (alta fecundidade, juvenis de vida

livre e extensa capacidade de dispersão (McMahon, 1983; Den Hartog et al., 1992), do que com a sua tolerância fisiológica (McMahon, 2002). Na verdade, esta espécie invasora quando comparada, por exemplo, com outras espécies de bivalves de água doce mostra-se menos tolerante a variações ambientais, tais como temperaturas elevadas, hipóxia, emersão, baixo pH e baixas concentrações de cálcio (Byrne & McMahon, 1994; Johnson & McMahon, 1998; McMahon, 2000; Sousa et al., 2007)

A amêijoia Asiática *C. fluminea* é uma espécie engenheira do ecossistema muito eficiente, sendo capaz de alterar a estrutura e funcionamento de habitats invadidos (Sousa et al., 2009). Quando esta espécie invasora está presente em altas densidades, pode causar uma ampla gama de impactos abióticos e bióticos, incluindo alterações na vegetação submersa, no fitoplâncton e zooplâncton, além de diminuir a abundância e a diversidade de espécies de bivalves nativos (Vaughn & Hakenkamp, 2001; Darrigran, 2002; McMahon, 2002; Sousa et al., 2008a; Ilarri & Sousa, 2012). Pode também diminuir a abundância de flagelados bentônicos, bactérias e diatomáceas e afetar outros organismos através da bioturbação dos sedimentos (Hakenkamp et al., 2001). Além disso, esta espécie possui uma elevada taxa de filtração que resulta na remoção de uma grande variedade de partículas em suspensão, aumentando assim a claridade da água e a penetração da luz que, entre outras alterações, pode ser vantajoso para as plantas submersas (Phelps, 1994). Esta elevada capacidade de filtração atua também como um elemento de controlo importante do fitoplâncton e zooplâncton, contribuindo para grandes mudanças no fluxo da matéria orgânica (Cohen et al., 1984; Phelps, 1994). A somar a isto, esta elevada filtração pode provocar um aumento da deposição de partículas ingeridas como fezes e pseudofezes, que pode levar ao aumento de matéria orgânica nos sedimentos, deslocando a produção primária da coluna de água para o compartimento bentônico (Vaughn & Hakenkamp, 2001).

Embora todos os efeitos maioritariamente negativos descritos acima, estudos recentes têm igualmente mostrado que a presença de *C. fluminea* também pode ter uma influência positiva sobre a densidade, biomassa e diversidade de alguns grupos de organismos (Ilarri et al., 2012; Novais et al., 2015). A presença de conchas de *C. fluminea* pode alterar a composição do substrato formando um habitat mais complexo, protegido e heterogêneo que permite a colonização de várias espécies, como crustáceos, insetos e gastrópodes (Sousa et al., 2008a). Na verdade, conchas de *C. fluminea* podem aumentar a área superficial e a diversidade de substrato dos fundos arenosos, resultando num aumento de invertebrados bentônicos (Werner & Rothhaupt, 2007). Substratos à base de conchas de *C. fluminea* podem também contribuir para reduzir a predação por níveis tróficos superiores, reduzir o stress físico e/ou fisiológico, e influenciar o transporte de partículas e solutos no ambiente bentônico, afetando potencialmente outras espécies (Sousa et al., 2009).

1.4. *Corbicula fluminea* em Portugal e objetivos

Em Portugal, *C. fluminea* está presente, pelo menos, desde 1980 onde foi descrita a sua presença no estuário do Rio Tejo (Mouthon, 1981). Desde então, o número de estudos sobre a distribuição desta espécie no país, e na Península Ibérica, em geral, tem vindo a aumentar significativamente (Pérez-Quintero, 2008). Parece, no entanto, haver uma incidência de estudos nos Rios Mondego, Minho e Lima, locais invadidos com sucesso por *C. fluminea*. No estuário do Rio Minho, a espécie foi descrita pela primeira vez em Outubro de 1989 e nos anos seguintes a população sofreu uma enorme expansão (Araújo et al., 1993). O estuário do Minho sofreu muitas alterações desde a introdução de *C. fluminea* uma vez que esta espécie domina em termos de densidade, biomassa e produção secundária (Sousa et al., 2008b; Sousa et al., 2008c). No estuário do Rio Lima, a espécie foi registada pela primeira vez em 2002, sendo a sua distribuição limitada a uma área restrita (Sousa et al., 2006a). A espécie, atualmente, encontra-se presente em pelo menos, onze bacias hidrográficas de Portugal (Tabela 1). Na verdade, a dispersão em território português parece ter sido rápida.

Tabela 1: Primeiros registos de *Corbicula fluminea* nas bacias hidrográficas portuguesas invadidas pela espécie. Adaptado de Rosa et al. (2011).

Bacias Hidrográficas	Primeiro registo de <i>C. fluminea</i>		Referências
	Ano	Local	
Tejo	1980	Rio Tejo (estuário)	(Mouthon, 1981)
Douro	1988	Rio Douro (estuário)	(Nagel, 1989)
Minho	1989	Rio Minho (estuário)	(Araújo et al., 1993)
Guadiana	2000	Rio Guadiana (a jusante da barragem do Alqueva)	(Pérez-Quintero, 2007)
Mondego	2000	Rio Mondego (estuário)	(Chainho et al., 2006)
Lima	2002	Rio Lima (estuário)	(Sousa et al., 2006)
Vouga	Desconhecido	Rio Vouga / Corujeira	(Reis, 2006)
Ribeiras do Oeste	Desconhecido	Rio Lizandro	(Reis, 2006)
Sado	Desconhecido	Rio Sado	(Morais et al., 2009)
Mira	2009	Barragem Santa Clara	(Rosa et al., 2011)
Ribeiras do Algarve	2009	Barragem Bravura	(Rosa et al., 2011)

A gestão da invasão de *C. fluminea* requer a identificação das principais rotas e vetores de introdução, reconhecimento das características da espécie que lhe conferem sucesso invasor, reconhecimento das características dos habitats invadidos, e uso de métodos ou estratégias adequadas para prevenir, erradicar e/ou controlar a espécie (Clout & Williams, 2009). No entanto, prever a trajetória de invasão e o sucesso de espécies invasoras tem sido difícil e *C. fluminea* não é exceção, apesar da extensa literatura que tem sido produzida sobre a espécie (Sousa et al., 2008a; Sousa et al., 2014).

Devido ao comportamento altamente invasor de *C. fluminea* e impactos gerados por esta espécie, torna-se necessário a aplicação de abordagens metodológicas que combinem as variáveis ambientais com a dinâmica espacial e temporal da espécie. Tendo em conta que os impactos económicos e ecológicos da amêijoia Asiática dependem da sua densidade, que por sua vez pode depender do tipo de substrato, disponibilidade de alimento, concentração de oxigénio, regime de temperatura e características biológicas do ecossistema invadido (Karatayev et al., 2005), torna-se necessário que sejam realizados estudos que façam uma monitorização contínua da espécie. A identificação de uma relação entre as variáveis ambientais e o desempenho do organismo, é essencial para a melhor gestão e determinação do estado em que se encontram as populações de amêijoia Asiática nos ecossistemas invadidos com diferentes graus de sucesso. Dado o esforço requerido por um programa de monitorização contínuo, medições indiretas são frequentemente utilizadas como indicadores do desempenho dos bivalves, tais como os índices de condição (Lucas & Beninger, 1985; Crosby & Gale, 1990). Além de serem usados como indicadores de “saúde” dos bivalves, os índices de condição são frequentemente utilizados na aquacultura como indicadores económicos da qualidade dos produtos comercializados (Orban et al., 2002). Além disto, os bivalves de água doce e marinhos apresentam acentuadas variações sazonais de peso e composição bioquímica do tecido mole (por exemplo, Zandee et al., 1980; Williams & McMahon, 1989) que estão relacionadas com os enormes gastos energéticos da gametogénese. Estudos que tenham avaliado a importância das variações sazonais na composição bioquímica de bivalves marinhos são relativamente numerosos (por exemplo, Ansell & Trevallion, 1967; Giese, 1969; Shafee, 1978) mas o mesmo já não acontece com bivalves de água doce. Na verdade, nenhum estudo até à data avaliou a importância das variações sazonais no estado ecofisiológico e composição bioquímica da espécie *C. fluminea*.

Em Portugal, o comportamento invasor de *C. fluminea* é elevado no estuário do Rio Minho. Como tal, este estuário fornece-nos uma oportunidade de melhor entender o sucesso invasor de *C. fluminea*, ao comparar o seu estado ecofisiológico com outras bacias hidrográficas também invadidas,

nomeadamente o estuário do Rio Lima, onde a espécie tem um sucesso invasor mais restrito, estando presente somente em alguns locais e apresentando uma baixa densidade. A determinação do estado ecofisiológico de populações de *C. fluminea* é de grande importância, uma vez que estas medições são capazes de fornecer informações complementares no que diz respeito ao estado dessas populações no sistema e de alguma forma fornecer indicações sobre o *fitness* da população avaliada; assim como perceber possíveis variações sazonais da composição bioquímica da espécie. Além disto, é essencial avaliar até que ponto existe competição intra-específica em *C. fluminea* por alimento e/ou espaço e a existir se esta competição é dependente da densidade; esta informação poderá ter igualmente uma influência no seu estado ecofisiológico.

Tendo em vista o descrito anteriormente, este trabalho teve como objetivos principais: 1) avaliar as diferenças espaço-temporais no estado eco fisiológico e composição bioquímica (proteína, lípidos e energia) de indivíduos de *C. fluminea* dos Rios Lima e Minho; e 2) estimar através de manipulações em condições naturais (Rio Minho) o efeito da competição intra-específica na condição ecofisiológica de indivíduos de *C. fluminea*.

2. Materiais e Métodos

2.1. Área de estudo

2.1.1. Rio Lima

O Rio Lima tem origem na Serra de São Mamede, na província de Orense, Espanha, a cerca de 950 m de altitude. Tem cerca de 108 km de comprimento, dos quais 67 km estão localizados em território Português e drena de ENE-WSW para o Oceano Atlântico. A bacia hidrográfica do Rio Lima tem uma área de cerca de 2 480 km², dos quais 1 303 km² situam-se em Espanha (53%) e 1 177 km² em Portugal (47%). A zona estuarina do rio está localizada a NW de Portugal, e a influência de maré estende-se a cerca de 20 km a montante. O estuário do Lima tem uma largura máxima de pouco mais de 1 km. Este estuário é mesotidal sendo parcialmente misturado; no entanto, durante o período de cheias tende a evoluir para um estuário de cunha salina (Alves, 1996).

Economicamente, este estuário é o mais importante da região do Alto Minho, devido à sua elevada variedade de recursos, sendo particularmente relevante para a pesca, dada a sua alta produtividade biológica e, para a navegação face às excelentes condições para a implantação de portos e outras atividades, como a construção civil e obras públicas. As suas margens são largamente exploradas pelo sector agrícola, devido à sua extensão e à cota baixa e uniforme que facilita o processo de rega. O estuário do Lima tem sido exposto a vários impactos devido à drenagem de resíduos provenientes de atividades domésticas, industriais e agrícolas; atividades de embarcações de recreio e comerciais; atividades de pesca; dragagem e regulamentações hidrológicas e também introdução de espécie não nativas (Sousa et al., 2006b)

A área de estudo situou-se no sector superior do estuário do Rio Lima, que é conhecido por ser colonizado por *C. fluminea* desde 2002 (Sousa et al., 2006b). Esta área inclui zonas subtidais e intertidais ao longo de cerca de 2 km do curso do rio (Figura 1).

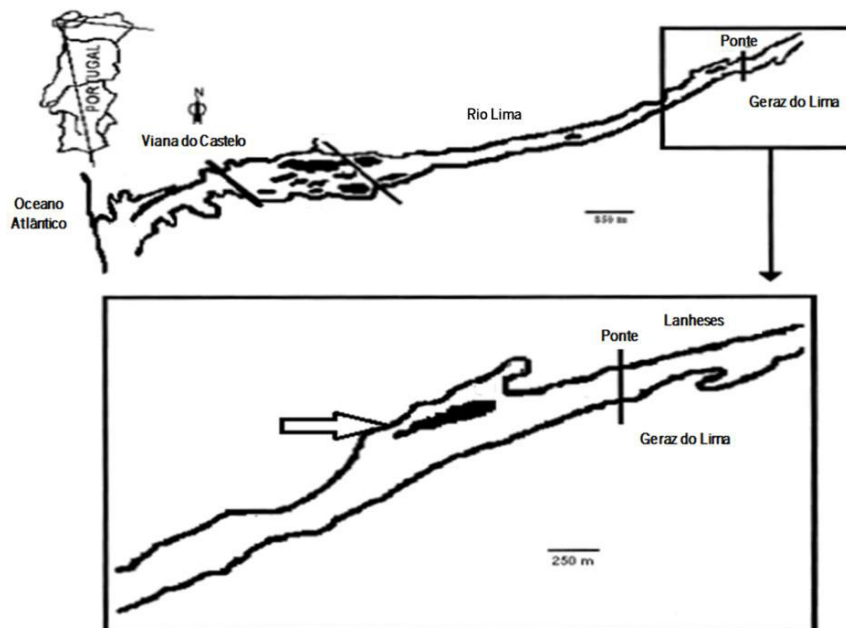


Figura 1: Mapa do Estuário do Rio Lima, mostrando o local de amostragem (assinalado com seta). Modificado de Sousa et al. (2006).

2.1.2. Rio Minho

O Rio Minho tem origem na Serra da Meira, na província de Lugo, Espanha, e drena de NNE-SSW para o Oceano Atlântico. A sua bacia hidrográfica tem uma área de 17080 km², 95% da qual está localizada em Espanha e 5% em Portugal. Tem cerca de 300 km de comprimento, sendo que os últimos 70 km compõem a sua secção internacional (a fronteira natural entre Portugal e Espanha). Os primeiros 230 km são fortemente regularizados pela presença de numerosas barragens. No entanto, a sua secção internacional não se encontra regularizada e está em boas condições ecológicas, embora existam alguns focos de poluição (Sousa et al., 2005).

O estuário do Rio Minho está localizado na costa noroeste da Península Ibérica, tem uma largura máxima de pouco mais de 2 km e estende-se por cerca de 40 km com uma porção de água doce exposta às marés de quase 30 km. Este estuário mesotidal é parcialmente misturado; no entanto, durante os períodos de cheias, tende a evoluir para um estuário de cunha salina (Sousa et al., 2005).

Devido à sua importância ecológica, o estuário do Rio Minho e a secção internacional do rio Minho foram designados como um sítio Natura 2000 e como área importante para as aves (BirdLife International, 2012). Nos últimos anos, vários estudos, especialmente focados em macroinvertebrados e peixes, foram realizadas neste estuário para caracterizar os principais processos ambientais e

ecológicos (Sousa et al., 2005, 2007, 2008d). Economicamente, é também um estuário importante para a região, com grande preponderância para atividades de turismo, pesca e agricultura. Tal como o estuário do Lima, nos últimos anos, esta região tem sido exposta a vários impactos devido à drenagem de resíduos provenientes de atividades domésticas, industriais e agrícolas; atividades de embarcações de recreio e comerciais; atividades de pesca; dragagem e regulamentações hidrológicas para além da introdução de espécie não nativas (Sousa et al., 2008e).

As amostragens de campo foram realizadas numa área semi-fechada relativamente baixa (profundidades variando de 1,5 a 3,0 m), localizada a 14 km a montante da foz do rio, em que uma ligeira influência salina (<1) ocorre, especialmente durante períodos das marés mais altas no verão/início do outono (Figura 2). Esta área cobre aproximadamente 0,05 km² e é bastante heterogénea, com partes cobertas com vegetação submersa, partes com sedimentos vasosos e outras com areia.



Figura 2: Mapa do Estuário do Rio Minho, mostrando o local de amostragem (assinalado com seta). Modificado de Mota et al. (2014).

2.2. Amostragem e análises laboratoriais

2.2.1 Diferenças espaço-temporais na condição fisiológica de indivíduos de *C. fluminea*

Para a avaliação das diferenças espaço-temporais das populações de *C. fluminea* recolheram-se indivíduos nos Rios Minho e Lima durante o inverno (Fevereiro), primavera (Junho) e verão (Agosto), a fim de se determinar a densidade, tamanho médio, estado ecofisiológico e composição bioquímica. Recolheram-se também dados ambientais.

2.2.1.1. Dados ambientais

Em cada uma das áreas amostradas foram sempre medidos os parâmetros ambientais, temperatura, condutividade, total de sólidos dissolvidos (TDS), salinidade, oxigénio, pH e profundidade. Estes fatores ambientais foram medidos *in situ* na coluna de água junto ao fundo, através uma sonda *multi-paramétrica* YSI EXO2, em triplicado (correspondendo a 3 dias distintos em condições de maré baixa) por ponto de amostragem e estação do ano.

Foram também recolhidas amostras de água para a determinação da clorofila, e amostras de sedimentos para a determinação da granulometria e teor de matéria orgânica.

Para a determinação da clorofila recolheu-se sempre 1L de água em três dias distintos de cada estação durante a maré baixa. A água foi inicialmente filtrada para posterior medição da concentração de clorofila a (Chl a: $\mu\text{g L}^{-1}$). A clorofila presente nos filtros foi extraída em acetona a 90% e analisada num espectrofotómetro *Spectronic Genesys 20*. A concentração de clorofila foi posteriormente calculada segundo o método descrito em Lorenzen (1967).

As amostras de sedimento recolhidas foram analisadas relativamente à sua granulometria e conteúdo de matéria orgânica. Para a granulometria, as amostras foram colocadas na estufa a 60°C durante 72 horas. De seguida, foi realizada uma análise dimensional através de uma peneiração por agitação Ro-Tap com colunas de crivos de acordo com uma escala dimensional de diferentes tamanhos de malha (> 2 mm - cascalho; 1 - 2 mm- areia muito grossa; 0,5 - 1mm - areia grossa; 0,25-0,5 mm - areia média; 0,125 - 0,25 mm - areia fina; 0,063 - 0,125 mm - areia muito fina; <0,063 mm - silte + argila). A frequência de cada classe foi expressa em percentagem do peso total. O conteúdo de matéria orgânica presente no sedimento foi determinado, após a combustão numa mufla a 550°C durante 24

horas. Os valores foram expressos em percentagem relativamente à perda de peso sobre a combustão de cada amostra analisada.

2.1.1.2. Densidade e tamanho médio das populações

Aquando das recolhas em cada rio (Lima e Minho) estimou-se a densidade e tamanho dos indivíduos. Para tal, realizaram-se cinco colheitas aleatórias por local de amostragem, nas quais se contaram e mediram o comprimento ($\pm 0,01$ mm) dos indivíduos por quadrado com uma área de $0,05 \text{ m}^2$.

2.1.1.3. Índices de condição

Índices de condição biológica são considerados medições úteis do estado ecofisiológico de bivalves. Neste trabalho, utilizaram-se dois índices de condição (IC), o IC(1) que é um índice de condição amplamente utilizado, por causa da natureza das medições envolvidas serem facilmente padronizadas e, assim, é mais universal. Além disso, este índice utiliza o peso seco dos indivíduos o que acaba por ser mais preciso uma vez que elimina a tendência de flutuações provocadas pela quantidade de água nos indivíduos. Um valor baixo para este índice indica que foi despendido um grande esforço biológico, quer na manutenção da energia sob más condições ambientais ou doenças, quer na produção e libertação de gâmetas. Deste modo, seja como um indicador de stress ou atividade sexual, este índice dá informações importantes sobre o estado ecofisiológico do animal. O IC(2) é considerado um índice mais preciso para a determinação do estado nutritivo dos indivíduos. Diferencia-se do IC(1) uma vez que tem em conta a proporção real do volume da cavidade interna da concha que os tecidos moles ocupam; ou seja, tem em conta as variações existentes da cavidade interna das conchas. No entanto, não tem uma aplicação tão universal como o índice anterior, o que dificulta possíveis comparações com outros trabalhos.

Para o cálculo dos índices de condição recolheram-se 30 indivíduos, por local e estação do ano. Os indivíduos coletados foram imediatamente transportados para laboratório e, posteriormente foram abertos e mantidos durante 20 minutos sobre papel absorvente. Procedeu-se à secagem dos espécimes numa estufa a 60°C durante 72 horas e, posteriormente, mediu-se o peso seco da concha e da parte mole, em separado, de cada espécime. Para o cálculo do volume interno da cavidade da concha, encheu-se uma das valvas com sal fino e determinou-se o peso. O valor obtido foi multiplicado por dois e subtraiu-se o peso seco da concha vazia, posteriormente converteu-se o valor final de g para mL.

$$IC(1) = \frac{\text{Peso seco da parte mole (g)}}{\text{Peso seco da concha (g)}} \times 100 \quad (\text{Walne \& Mann, 1975})$$

$$IC(2) = \frac{\text{Peso seco da parte mole (g)}}{\text{Volume da cavidade interna da concha (mL)}} \times 100 \quad (\text{Higgins, 1938})$$

2.1.1.4. Composição bioquímica

Os indivíduos utilizados para o cálculo dos índices de condição biológica, foram posteriormente submetidos a uma combustão numa mufla a 550°C durante 4 horas. Os valores obtidos neste procedimento permitiram uma caracterização do teor de matéria orgânica e inorgânica de cada indivíduo.

Para a determinação do valor nutricional dos espécimes recolhidos, realizaram-se análises de proteína, gordura e energia, para as quais foi necessário, respetivamente, entre 500mg-1g, 1g a 3g e 500mg a 1g de peso seco para cada análise. Tendo por base estes valores recolheram-se, em cada rio, os indivíduos necessários para perfazer o peso necessário. Os espécimes recolhidos foram transportados para laboratório, procedendo-se à sua abertura e mantidos abertos sobre papel absorvente durante cerca de 20 minutos. De seguida, procedeu-se a uma separação da parte mole e da concha de cada espécime e, a parte mole foi seca numa estufa a 60°C durante 72 horas. Posteriormente, o material seco foi triturado até se obter um pó fino que foi então analisado em duplicado de acordo com protocolos de análises bem estabelecidos para proteínas (Bradford, 1976), lípidos (Método Soxhlet) e valor de energia (utilizando uma bomba adiabática calorimétrica IKA Werke GmbH & Co, KG, Staufen, Alemanha).

2.2. Avaliação da competição intra-específica na condição fisiológica de indivíduos de *C. fluminea*

A experiência de campo foi realizada no Rio Minho, tendo sido selecionado um ponto de amostragem em que a espécie se encontra sob elevada densidade (Figura 3). A área selecionada localizou-se a cerca de 40 quilómetros a montante da foz do rio na margem esquerda (42°04'036.81'' N, 8°31'00.25'' W, datum WGS 84), numa área com uma profundidade baixa (menor do que 1 m durante a primavera, verão e outono), com velocidade da corrente baixa e com condições de água doce permanente. Nesta área, o rio tem uma descarga média anual de 326 m³ s⁻¹,

com valores mínimos de verão á volta de $47 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ e valores máximos em torno de $1350 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (SAICA Water Quality Network Station N015; Minho-Sil River Basin Authority).

O efeito da competição intra-específica na condição ecofisiológica de indivíduos de *C. fluminea* foi avaliado através de manipulações em condições naturais de três densidades diferentes de *C. fluminea*: 150 indivíduos/ m^2 , 500 indivíduos/ m^2 e 1000 indivíduos/ m^2 . Foram utilizadas quatro réplicas por densidade. Os indivíduos de *C. fluminea* coletados no Rio Minho foram distribuídos por 12 caixas ($n=4$ por densidade) previamente preenchidas com substrato recolhido no rio. As caixas foram devidamente identificadas, isoladas com redes (malha de 13mm) de forma a não permitir a entrada de organismos maiores, e colocadas no rio.

Os indivíduos utilizados nas caixas foram medidos previamente de forma que todos os tratamentos recebessem animais com comprimentos (e biomassa) semelhantes. Para além disso, selecionaram-se 30 indivíduos para o cálculo dos índices de condição biológica antes que a experiência tivesse início, a fim de servirem como valor referência para comparação com os indivíduos presentes nas caixas no final da experiência. As caixas foram mantidas cerca de 5 meses (início em 27 de Junho e final em 8 de Novembro de 2016) dentro de água. No final da experiência, procedeu-se ao cálculo dos índices de condição (seguindo a mesma metodologia descrita acima) dos indivíduos de cada tratamento.



Figura 3: Mapa do Estuário do Rio Minho, mostrando o local de amostragem (assinalado com seta). Modificado de Mota et al. (2014)

2.3. Análise estatística de dados

Inicialmente todas as variáveis abióticas foram normalizadas e calculou-se uma matriz de semelhança baseada nas distâncias euclidianas. Com a matriz normalizada, realizou-se uma análise de componentes principais (PCA) para testar possíveis diferenças abióticas em cada um dos rios e ao longo das estações do ano.

Análises de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) foram utilizadas para a avaliação das possíveis diferenças nos índices de condição, análises bioquímicas (proteína, gordura e energia) ao longo do espaço (rios) e tempo (estações do ano). Testes PERMANOVAs foram também utilizados na experiência da competição intra-específica para a avaliação das possíveis diferenças nos índices de condição biológica dos indivíduos por tratamento com diferentes densidades (150 indivíduos/m², 500 indivíduos/m² e 1000 indivíduos/m²). Este método analisa a variância de dados multivariados explicada por um conjunto de fatores explicativos, com base em qualquer medida de distância ou dissimilaridade, permitindo assim uma ampla gama de distribuições empíricas de dados. Antes de realizar os testes estatísticos, todas as variáveis foram sempre normalizadas e uma matriz baseada nas distâncias euclidianas foi calculada. Para as diferenças espaço temporais, os índices de condição biológica e as análises bioquímicas foram testadas estatisticamente através de uma *two-way* PERMANOVA (tipo-III), com os rios (Lima e Minho) e as estações do ano (inverno, primavera e verão) como fatores fixos. Para a competição intra-específica, recorreu-se a uma *one-way* PERMANOVA (tipo-III), utilizando-se o tratamento como fator fixo (três níveis: 150 indivíduos/m², 500 indivíduos/m² e 1000 indivíduos/m²).

Em todos os testes PERMANOVA, a significância estatística da variância ($\alpha = 0,05$) foi testada usando 9999 permutações de resíduos dentro de um modelo reduzido. Quando o número de permutações foi inferior a 150, foi considerado o *p-value* Monte Carlo. Além disso, para todos os resultados com diferenças estatisticamente significativas obtidos nos testes PERMANOVA, foram realizadas comparações *pairwise*.

Para todos os testes estatísticos utilizou-se o *software* analítico PRIMER (versão 6.1.6, PRIMER-E Ltd, Plymouth, U.K.) com o complemento PERMANOVA + 1.0.1 (Anderson et al., 2008).

3. Resultados

3.1. Diferenças espaço-temporais na condição fisiológica de indivíduos de *C. fluminea*

3.1.1 Dados Ambientais

Ao longo das estações do ano, os fatores temperatura, oxigênio e pH variaram de forma semelhante em ambos os rios (Tabela 2). No entanto, o Rio Lima apresentou valores elevados de condutividade, salinidade e TDS durante o verão, tendo estes sido muito diferentes dos registados no Rio Minho.

Tabela 2: Valores médios (\pm Desvio padrão) dos parâmetros físico-químicos (temperatura, condutividade, total de sólidos dissolvidos (TDS), salinidade, oxigênio, pH e profundidade) medidos nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão).

	Rio Lima		
	Inverno	Primavera	Verão
Temperatura (°C)	10,3 \pm 1,50	17,9 \pm 2,96	18,8 \pm 2,35
Condutividade (μScm^{-1})	48,6 \pm 1,72	103,7 \pm 53,00	706,8 \pm 328,24
TDS (mgL^{-1})	60,6 \pm 5,05	48,9 \pm 15,34	456,0 \pm 212,13
Salinidade (psu)	0,04 \pm 0,01	0,09 \pm 0,06	0,4 \pm 0,18
Oxigênio (%)	95,2 \pm 1,76	101,1 \pm 8,64	91,3 \pm 3,46
Oxigênio (mgL^{-1})	10,1 \pm 0,04	9,5 \pm 0,08	8,8 \pm 0,04
pH	6,8 \pm 0,12	8,0 \pm 0,12	7,5 \pm 0,42
Profundidade (m)	0,4 \pm 0,06	0,1 \pm 0,00	0,1 \pm 0,04
Clorofila (Chl a: $\mu\text{g L}^{-1}$)	0,4 \pm 0,16	0,6 \pm 0,39	1,3 \pm 1,12
	Rio Minho		
	Inverno	Primavera	Verão
Temperatura (°C)	9,2 \pm 1,44	18,5 \pm 0,91	21,7 \pm 1,20
Condutividade (μScm^{-1})	59,6 \pm 4,37	76,7 \pm 4,01	91,1 \pm 10,54
TDS (mgL^{-1})	44,7 \pm 3,51	59,3 \pm 14,98	57,5 \pm 4,95
Salinidade (psu)	0,04 \pm 0,00	0,05 \pm 0,01	0,05 \pm 0,00
Oxigênio (%)	90,0 \pm 2,00	120,2 \pm 5,51	75,3 \pm 12,37
Oxigênio (mgL^{-1})	9,9 \pm 0,07	11,2 \pm 0,61	7,1 \pm 0,24
pH	6,9 \pm 0,06	8,1 \pm 0,16	7,7 \pm 0,49
Profundidade (m)	0,5 \pm 0,00	0,1 \pm 0,06	0,2 \pm 0,00
Clorofila (Chl a: $\mu\text{g L}^{-1}$)	10,7 \pm 0,89	4,4 \pm 0,52	7,3 \pm 3,87

Relativamente aos valores de clorofila (Tabela 2), estes foram significativamente superiores no Rio Minho, quando comparados com os do Rio Lima. Por outro lado, no Rio Lima o menor valor de clorofila observou-se no inverno e o maior no verão. No Rio Minho o maior valor foi registado no inverno, tendo a primavera sido a estação com o menor valor.

A granulometria do sedimento manteve-se relativamente constante ao longo das diferentes estações do ano para ambos os rios (Tabela 3). No Rio Lima, o sedimento foi composto por areia muito grossa, predominando o sedimento com 2 mm, representando mais de 55% do sedimento total. Por outro lado, o Rio Minho mostrou ser composto principalmente por areia fina, sendo que cerca de 57% do sedimento tinha um tamanho de 250 μm . Na matéria orgânica presente no sedimento (Tabela 3), observou-se que os menores valores foram na primavera, tendo o maior valor sido registado no verão, para ambos os rios.

Tabela 3: Percentagem (\pm Desvio padrão) da granulometria do sedimento e da matéria orgânica (\pm Desvio padrão) presente no sedimento recolhido nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão).

Granulometria do Sedimento						
Crivo	Rio Lima			Rio Minho		
	Inverno	Primavera	Verão	Inverno	Primavera	Verão
2 mm	59,41	55,14	61,19	1,44	2,14	0,28
1 mm	15,95	20,04	14,36	1,24	1,05	0,84
500 μm	13,21	14,09	9,89	31,73	29,54	28,41
250 μm	9,21	8,83	7,77	50,74	60,32	60,00
125 μm	1,45	1,16	3,00	11,19	6,28	8,49
63 μm	0,42	0,33	2,05	3,24	0,49	1,62
<63 μm	0,34	0,40	1,75	0,43	0,17	0,35
Matéria orgânica (%)						
	Rio Lima			Rio Minho		
	Inverno	Primavera	Verão	Inverno	Primavera	Verão
	1,2 \pm 0,65	0,7 \pm 0,03	2,2 \pm 0,16	1,2 \pm 0,05	1,1 \pm 0,006	2,2 \pm 0,17

A análise PCA revelou uma marcada diferença entre as estações do ano, principalmente entre o inverno e a primavera que formaram dois grupos bem definidos (Figura 4). Os dois primeiros eixos explicaram 70,6% da variância (PC1=43,1% e PC2=27,5%). A diferença entre as estações foi principalmente relacionada aos valores mais altos de profundidade durante o inverno. O inverno apresentou os maiores valores de profundidade e clorofila, sendo que a primavera diferiu principalmente devido ao oxigênio (mg l^{-1}).

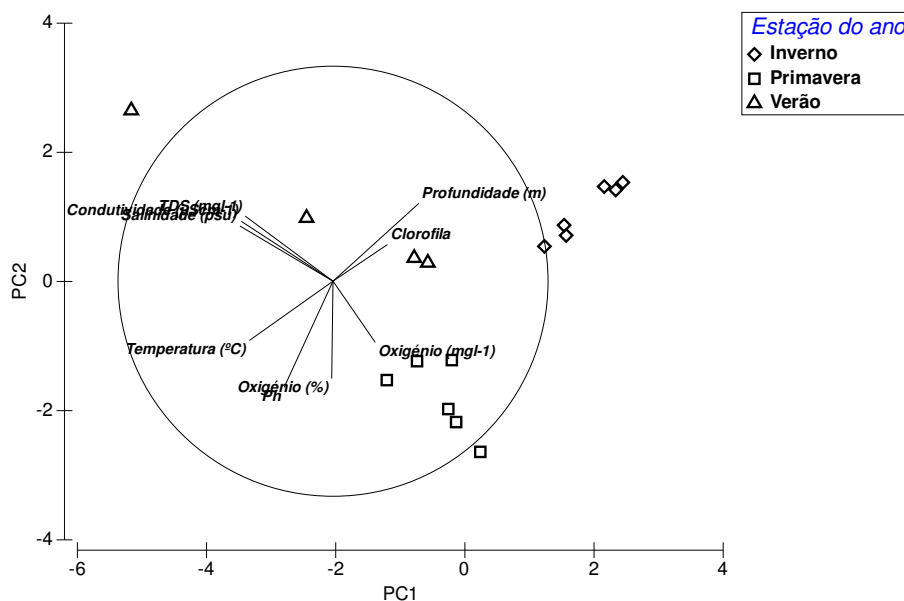


Figura 4: Análise de componentes principais mostrando as diferenças nas variáveis ambientais ao longo das estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. Os dois primeiros eixos explicam 70,6% da variância (PC1=43,1% e PC2=27,5%).

3.1.2. Densidade e tamanho médio das populações

De uma forma geral, verificou-se que a densidade de *C. fluminea* é mais elevada no Rio Minho, sendo bastante inferior no Rio Lima (Tabela 4). Por outro lado, o comprimento das conchas dos indivíduos de *C. fluminea* no Rio Lima foi superior ao dos indivíduos do Rio Minho (Tabela 4).

No Rio Lima, a menor densidade de *C. fluminea* registou-se no inverno, sendo que a mais elevada foi no verão. Relativamente ao comprimento da concha, os indivíduos apresentaram um tamanho maior durante o inverno e menor durante a primavera.

No Rio Minho, a densidade média de *C. fluminea* foi maior na primavera e menor durante as estações de inverno e verão. O comprimento médio das conchas foi maior durante o verão e menor durante o inverno.

Tabela 4: Densidade e comprimento médio (\pm Desvio padrão) de indivíduos de *Corbicula fluminea* coletados nos Rios Lima e Minho durante as diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão).

	Rio Lima		Rio Minho	
	Densidade (ind./m ²)	Comprimento (mm)	Densidade (ind./m ²)	Comprimento (mm)
Inverno	20,0 \pm 8,94	29,8 \pm 7,18	164,0 \pm 72,66	15,4 \pm 9,97
Primavera	36,0 \pm 40,99	14,7 \pm 8,21	368,0 \pm 102,57	18,0 \pm 7,63
Verão	48,0 \pm 30,33	20,3 \pm 6,91	164,0 \pm 51,77	20,0 \pm 7,87

3.1.3. Índices de condição

No geral, ambos os índices de condição apresentaram o maior valor durante o verão, quer no Rio Lima quer no Rio Minho (Figuras 5 e 6). Já o valor mais baixo foi registrado na primavera no caso do Rio Lima e no inverno no Rio Minho (Figuras 5 e 6).

Analisando separadamente cada índice de condição, observaram-se diferenças estatisticamente significativas (Tabelas 5 e 6). O índice de condição 1 mostrou diferenças estatísticas na interação dos fatores rio e estação do ano (Pseudo-F=128,15; $P < 0,001$; Figura 5; Tabela 5). Ou seja, comparando o Rio Lima com o Rio Minho para cada estação do ano, verificou-se que o índice de condição foi diferente na comparação entre os rios durante a mesma estação do ano.

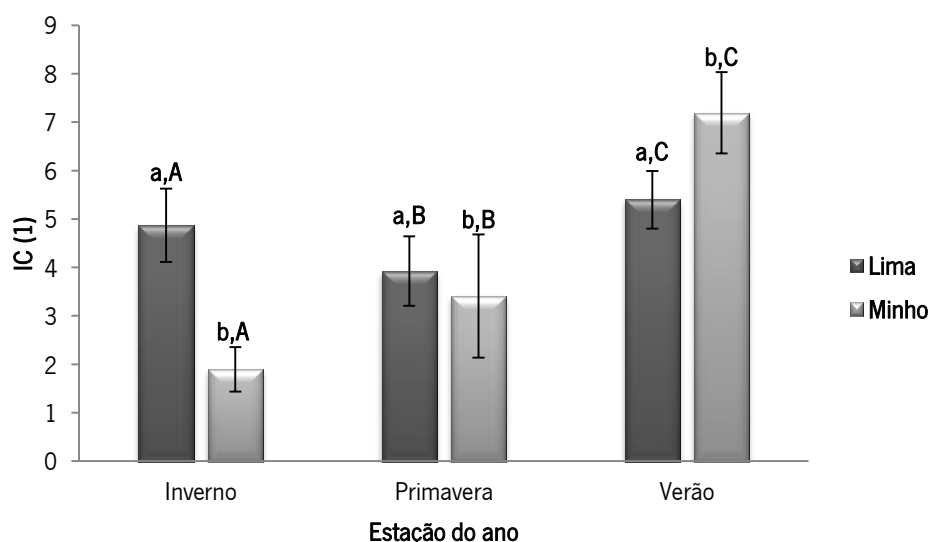


Figura 5: Valor médio (\pm Desvio padrão) do índice de condição 1 (IC 1) de indivíduos de *Corbicula fluminea* coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão). Diferentes letras indicam diferenças no valor do índice de condição na comparação entre os rios (letras minúsculas) e ao longo das estações do ano (letras maiúsculas) (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,05$).

Tabela 5: Resultados da *Two-way* PERMANOVA do índice de condição 1 de indivíduos de *Corbicula fluminea* coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão); ns= valor não significativo.

Índice de Condição 1					
Factor	df	SS	MS	Pseudo-F	p
Estação do ano	2	90,825	45,412	232,74	< 0,01
Rio	1	4,2125	4,2125	21,589	< 0,01
Estação do ano x Rio	2	50,011	25,006	128,15	< 0,01

No Rio Lima o índice de condição 2 foi menor na primavera e apresentou o maior valor no verão (Figura 6). Já no Rio Minho o menor valor deste índice registou-se no inverno (Figura 6).

O índice de condição 2 também apresentou diferenças estatísticas na interação entre os fatores rio e estação do ano (Pseudo-F=143,29; $P < 0,001$; Figura 6; Tabela 6). Neste índice, existiram diferenças entre os dois rios para as estações de inverno e verão. No entanto, na primavera não se observaram diferenças significativas entre os Rios Lima e Minho.

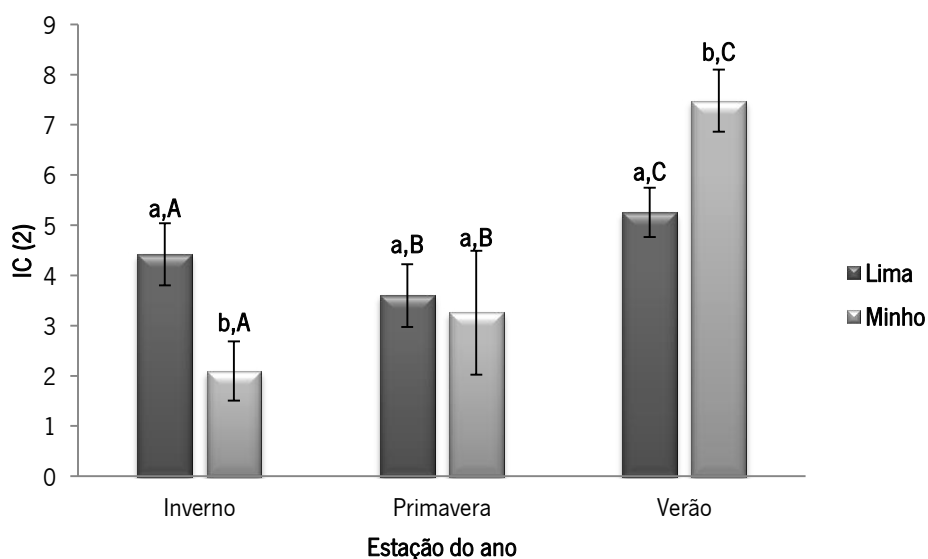


Figura 6: Valor médio (\pm Desvio padrão) do índice de condição 2 (IC 2) de indivíduos de *Corbicula fluminea* coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão). Diferentes letras indicam diferenças no valor do índice de condição na comparação entre os rios (letras minúsculas) e ao longo das estações do ano (letras maiúsculas) (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,05$).

Tabela 6: Resultados da *Two-way* PERMANOVA do índice de condição 2 de indivíduos de *Corbicula fluminea* coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão); ns= Valor não significativo.

Índice de Condição 2					
Factor	df	SS	MS	Pseudo-F	p
Estação do ano	2	106,15	53,077	336,88	< 0,001
Rio	1	0,28124	0,28124	1,785	ns
Estação do ano x Rio	2	45,151	22,576	143,29	< 0,001

3.1.4. Composição Bioquímica

No Rio Lima, a parte mole fresca de *C. fluminea* foi composta em média (\pm Desvio padrão) por $84,8 \pm 2,34\%$ de água e $15,2 \pm 2,34\%$ de matéria seca, enquanto a parte mole seca foi constituída por $94,7 \pm 3,99\%$ de matéria orgânica e $5,3 \pm 3,99\%$ de matéria inorgânica (Tabela 7). No Rio Minho, a parte mole fresca foi composta por $85,6 \pm 3,92\%$ de água e $14,4 \pm 3,92\%$ de matéria seca, sendo que a parte mole seca foi composta por $94,9 \pm 2,14\%$ de matéria orgânica e $5,1 \pm 2,14\%$ de matéria inorgânica (Tabela 7).

Tabela 7: Constituição da parte mole fresca (% de água e de matéria seca) e da parte mole seca (% de matéria orgânica e de matéria inorgânica) de indivíduos de *Corbicula fluminea* coletados nos Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão).

Rio Lima				
	Parte mole fresca		Parte mole seca	
	% Água	% Matéria seca	% Matéria orgânica	% Matéria inorgânica
Inverno	$84,2 \pm 2,09$	$15,8 \pm 2,09$	$95,9 \pm 0,78$	$4,1 \pm 0,78$
Primavera	$87,1 \pm 1,89$	$12,9 \pm 1,89$	$94,7 \pm 1,68$	$5,3 \pm 1,68$
Verão	$83,1 \pm 1,30$	$16,9 \pm 1,30$	$94,0 \pm 6,26$	$6,0 \pm 6,26$
Rio Minho				
Inverno	$89,5 \pm 1,09$	$10,5 \pm 1,09$	$94,5 \pm 0,92$	$5,5 \pm 0,92$
Primavera	$85,4 \pm 3,26$	$14,6 \pm 3,26$	$93,5 \pm 2,61$	$6,5 \pm 2,61$
Verão	$81,3 \pm 0,83$	$18,7 \pm 0,83$	$96,9 \pm 0,49$	$3,1 \pm 0,49$

Para as análises bioquímicas de proteína, gordura e energia, de uma forma geral verificaram-se diferenças significativas na composição dos indivíduos coletados ao longo das diferentes estações do ano. No entanto, na comparação entre os indivíduos coletados nos diferentes rios (Lima *versus* Minho) diferenças significativas só foram observadas para as proteínas. A interação entre os fatores rio e estação do ano foi estatisticamente significativa nas análises da proteína e gordura, mas não para a energia (Tabela 8).

Tabela 8: Resultados da Two-way PERMANOVA das análises bioquímicas de proteína, lípidos e energia. Comparando os Rios Lima e Minho ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão); ns= valor não significativo.

Proteína					
Factor	df	SS	MS	Pseudo-F	p
Estação do ano	2	4,8289	2,4145	106,45	<0,001
Rio	1	4,6665	4,6665	205,74	<0,001
Estação do ano x Rio	2	8,9071	4,4536	196,35	<0,001
Lípidos					
Estação do ano	2	6,9055	3,4528	7,2937	<0,01
Rio	1	2,0816E ⁻²	2,0816E ⁻²	4,3973E ⁻²	ns
Estação do ano x Rio	2	4,8023	2,4012	5,0722	<0,05
Energia					
Estação do ano	2	9,3967	4,6983	9,4019	<0,01
Rio	1	9,9615E ⁻²	9,9615E ⁻²	0,19934	ns
Estação do ano x Rio	2	2,5927	1,2964	2,5941	ns

Verificou-se que a composição proteica dos indivíduos coletados nos Rios Lima e Minho durante o inverno variou significativamente, sendo que os indivíduos no Rio Minho apresentaram valores significativamente maiores dos que os indivíduos coletados no Rio Lima (Figura 7).

Analisando cada rio, observou-se que no Lima, os níveis de proteína dos indivíduos coletados no inverno foram significativamente menores na comparação com os valores dos indivíduos coletados na primavera e verão; no entanto, nos indivíduos coletados na primavera e verão não se verificaram diferenças significativas. No Rio Minho os valores de proteína dos indivíduos coletados variaram significativamente ao longo das estações do ano (inverno ≠ primavera ≠ verão).

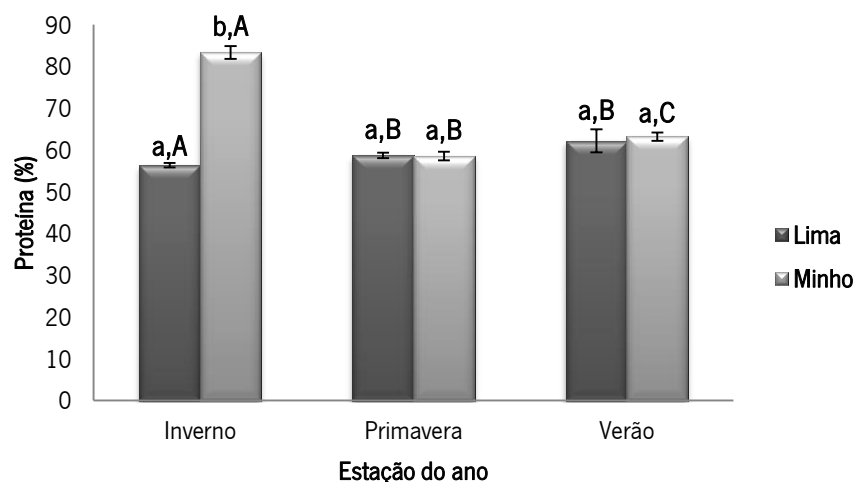


Figura 7: Percentagem de proteína ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. Diferentes letras indicam diferenças entre os rios (letras minúsculas) e ao longo das estações do ano (letras maiúsculas) (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,05$).

Por sua vez, os indivíduos coletados nos Rios Lima e Minho não mostraram diferenças significativas a nível dos lípidos na comparação entre rios (Figura 8). Diferenças só foram observadas na comparação dos indivíduos ao longo das estações do ano (Figura 8).

Os valores de lípidos dos indivíduos coletados no Rio Lima ao longo das estações não variaram estatisticamente (inverno = primavera = verão). Em contrapartida, no Rio Minho os valores foram estatisticamente diferentes ao longo das estações do ano (inverno \neq primavera \neq verão).

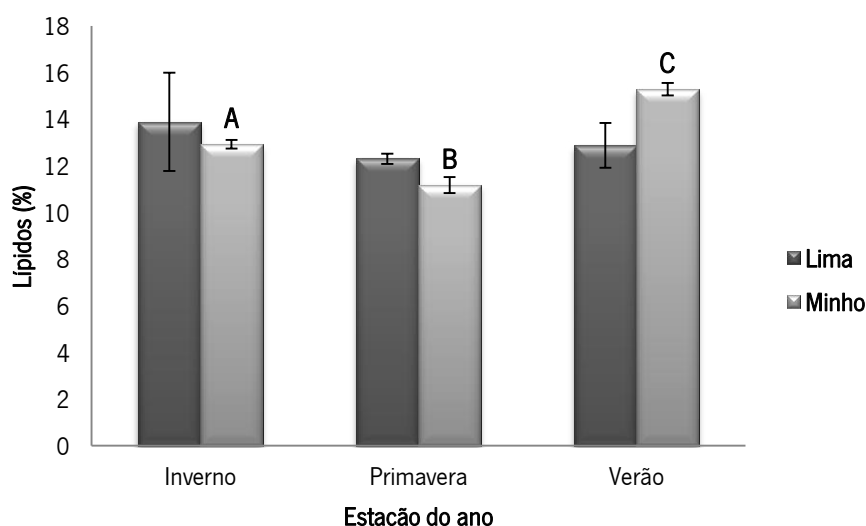


Figura 8: Percentagem de lípidos ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. Diferentes letras indicam diferenças ao longo das estações do ano no Rio Minho (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,05$).

À semelhança dos resultados dos lípidos, a energia também não mostrou diferenças significativas entre os Rios Lima e Minho (Figura 9). Além disto, observou-se que a interação da estação do ano com os rios não foi estatisticamente significativa.

No que diz respeito à composição de energia dos indivíduos coletados ao longo das estações do ano, no Rio Lima não se observaram diferenças. Já no Rio Minho a composição a nível de energia dos indivíduos no inverno foi estatisticamente diferente quando comparado aos indivíduos coletados na primavera e verão.

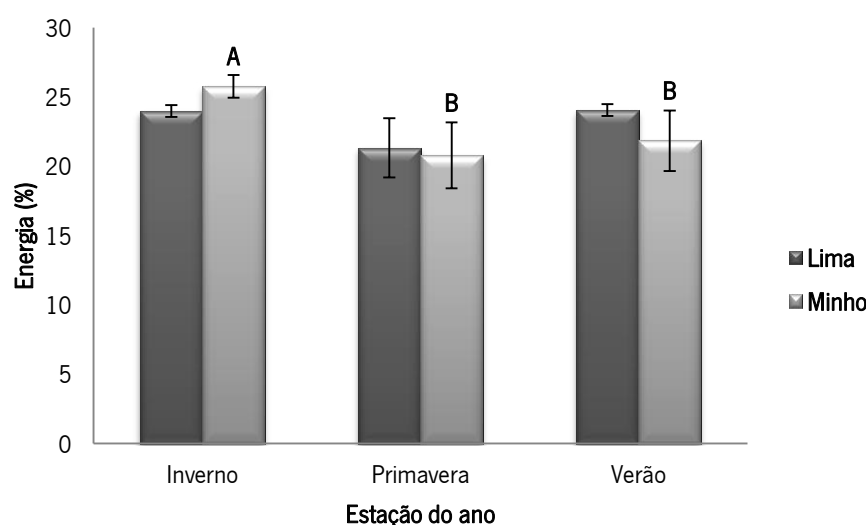


Figura 9: Percentagem de energia ao longo das diferentes estações do ano (inverno, primavera e verão) nos Rios Lima e Minho. Diferentes letras indicam diferenças ao longo das estações do ano no Rio Minho (testes *pairwise two-way* PERMANOVA; $P < 0,01$).

3.2. Avaliação da competição intra-específica na condição fisiológica de indivíduos de *C. fluminea*

Anteriormente à manipulação de densidades, verificou-se que o valor médio (\pm Desvio padrão) dos índices de condição de indivíduos selecionados de *C. fluminea* foi, respetivamente, $6,2 \pm 0,8$ para o IC(1) e $6,8 \pm 0,8$ para o IC(2).

Observando ambos os índices de condição biológica, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas na comparação entre os diferentes tratamentos (Figuras 10 e 11).

O IC1 mostrou diferenças estatísticas na comparação entre os diferentes tratamentos utilizados (Pseudo-F=7,1111; $P<0,01$), em que o menor valor registado foi no tratamento de 150 indivíduos/m² e o maior no de 500 indivíduos/m² (Figura 10).

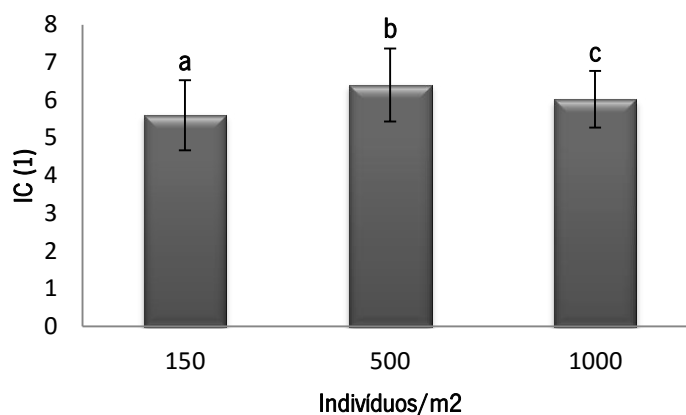


Figura 10: Valor médio (\pm Desvio padrão) do índice de condição 1 (IC 1) de indivíduos de *Corbicula fluminea* submetidos a diferentes densidades de *C. fluminea* (150, 500 e 1000 indivíduos/m²). Diferentes letras indicam diferenças entre os tratamentos (testes *pairwise one-way* PERMANOVA; $P < 0,05$)

Por sua vez, para o IC(2) também se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes tratamentos (Pseudo-F=10,054; $P<0,001$; Figura 11). À semelhança do índice anterior, o menor valor deste índice registou-se para o tratamento de 150 indivíduos/m², tendo este tratamento sido estatisticamente diferente dos restantes. No entanto, os tratamentos de 500 e 1000 indivíduos/m² não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

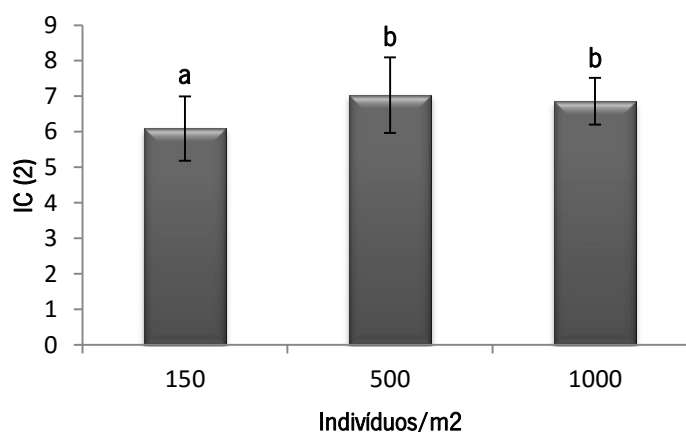


Figura 11: Valor médio (\pm Desvio padrão) do índice de condição 2 (IC 2) de indivíduos de *Corbicula fluminea* submetidos a diferentes densidades de *C. fluminea* (150, 500 e 1000 indivíduos/m²). Diferentes letras indicam diferenças entre os tratamentos (testes *pairwise one-way* PERMANOVA; $P < 0,05$)

4. Discussão

4.1. Diferenças espaço-temporais na condição fisiológica de indivíduos de *C. fluminea*

Variações espaço-temporais na condição ecofisiológica de indivíduos de *C. fluminea* foram observadas, destacando-se: 1) diferenças sazonais nos índices de condição de *C. fluminea* nos Rios Lima e Minho e 2) diferenças na composição bioquímica de *C. fluminea*, principalmente na proteína, que variou sazonalmente e entre rios.

No geral, os índices de condição testados variaram ao longo das estações do ano e de forma semelhante em cada um dos rios (Rio Lima: verão>inverno>primavera; Rio Minho: verão>primavera>inverno). Existem numerosos índices de condição ecofisiológica descritos na literatura. Por exemplo, Davenport & Chen (1987) compararam sete índices, enquanto Crosby & Gale (1990) reviram seis índices. Neste trabalho foram utilizados dois índices de condição considerados por estes autores dos mais confiáveis e embora calculados por dois métodos diferentes, em que diferentes medições foram feitas, produziram resultados semelhantes.

Variações sazonais nos valores dos índices de condição resultam da interação de diversos fatores, que incluem desde a disponibilidade de alimento à variação dos valores de temperatura, caudal e salinidade, entre outros. No entanto, usualmente a disponibilidade de alimento é o fator mais importante a seguir ao ciclo gametogénico da espécie (Hickman & Illingworth, 1980; Smaal & Van Stralen, 1990). Além destas fontes de variabilidade, há uma resposta fisiológica intrínseca dos bivalves aos ciclos sazonais que determinam o ciclo reprodutivo, que é crucial para os padrões de biomassa e, portanto, para os valores dos índices de condição testados (Boscolo et al., 2003; Royer et al., 2008; Li et al., 2009; Pogoda et al., 2011).

Neste trabalho, o verão mostrou ser a estação do ano na qual os indivíduos de *C. fluminea* apresentam os valores mais altos em ambos os índices de condição; ou seja, a espécie encontrou-se num melhor estado fisiológico durante esta estação do ano para ambos os rios. Já os valores mais baixos dos índices de condição verificaram-se na primavera para o Rio Lima e no inverno para o Rio Minho. Para *C. fluminea* a maioria dos estudos apontam que a espécie se reproduz duas vezes por ano (uma vez na primavera/início do verão, associado a um aumento da temperatura e maior disponibilidade de alimento e uma outra vez no final do verão/outono, associado a uma diminuição da temperatura) (Ilarri & Sousa, 2011). Porém existem estudos que reportaram só um período reprodutivo, enquanto em outros foram encontrados três, com diferenças entre os anos e até no mesmo local (Doherty et al., 1987; Darrigran, 2002). Esta variabilidade no número de eventos

reprodutivos muitas vezes está relacionada com a temperatura da água e/ou quantidade de alimento disponível (Cataldo & Boltovskoy, 1998; Rajagopal et al., 2000; Mouthon, 2001). É possível que os baixos valores dos índices de condição observados na primavera e inverno para ambos os rios estejam relacionados com o primeiro período de reprodução da espécie, que tende a ocorrer na primavera. Estudos mostram que o índice de condição diminui nas amêijoas durante e após a reprodução (por exemplo, Baird, 1958; Foe & Knight, 1985; Ruddy et al., 1975). Neste caso, no Rio Lima os valores mais baixos na primavera podem ser justificados por uma possível libertação de gâmetas nessa estação do ano. Já no Rio Minho, os valores mais baixos dos índices de condição registaram-se no inverno, apesar do pico de alimento (clorofila a) observado. No entanto, as temperaturas mais baixas juntamente com a possível libertação dos gâmetas da espécie no outono e formação de gâmetas para posterior libertação na primavera podem ter afetado a condição dos indivíduos, justificando os menores valores nos índices de condição durante este período. A espécie recuperou nos meses de verão em ambos os rios, sendo que esse aumento dos índices de condição poderá estar relacionado com uma maior disponibilidade de alimento.

A acumulação e o uso das reservas armazenadas nos bivalves estão associados ao estágio de desenvolvimento das gónadas, para além das influências ambientais nas atividades metabólicas e também da quantidade e qualidade do alimento disponível (Ansell, 1972). Os ciclos sazonais tanto dos índices de condição como da composição bioquímica estão relacionados com o ciclo gametogénico e com o armazenamento e utilização reservas (Dare & Edwards, 1975; Gabbott & Bayne, 1973). Assim sendo, as variações na composição bioquímica estão intimamente relacionadas ao ciclo reprodutivo, o qual foi já demonstrado para várias espécies de bivalves, incluindo o mexilhão *Mytilus galloprovincialis* (Bressan & Marin, 1985), as amêijoas *Venerupis philippinarum* e *V. decussata* (Beninger, 1984) e algumas espécies de ostra, como por exemplo *Crassostrea gigas* (Gabbott, 1976; Berthelin et al., 2000). Em geral, a energia é armazenada antes da gametogénese quando o alimento é abundante na forma de lípidos, glicogénio e proteína e, posteriormente, é mobilizada e utilizada na produção de gâmetas quando os requerimentos metabólicos são altos (Bayne, 1976; Dridi et al., 2007).

As proteínas são o principal componente orgânico dos oócitos dos bivalves (Holland, 1978). E como tal, os níveis de proteína tendem a ser superiores antes da libertação dos gâmetas, diminuindo logo de seguida. Esta diminuição do nível de proteína após a reprodução já foi demonstrada em alguns bivalves marinhos (por exemplo, Berthelin et al., 2000; Bressan & Marin, 1985; Galap et al., 1997; Marin et al., 2003). Neste trabalho, a proteína foi o componente bioquímico que apresentou maior variação, quer ao nível sazonal quer na comparação entre os dois rios. Verificou-se que no Rio Lima os

níveis de proteína foram mais baixos na primavera bem como no inverno, corroborando os resultados dos índices de condição, estando possivelmente relacionados com uma possível libertação de gâmetas anteriormente ou ao longo destas estações. Já no Rio Minho observou-se um pico de proteína (83,3%) no inverno que poderá estar relacionado com a formação de gâmetas que serão posteriormente libertados na primavera. Este pico de proteína parece também estar relacionado com a grande quantidade de clorofila disponível nesta estação para esse rio. Esta situação (diferenças na proteína durante o inverno) poderá indicar que existe um pequeno desfasamento das épocas de gametogénese e reprodução de *C. fluminea* nos Rios Lima e Minho e futuros trabalhos deveriam testar esta hipótese.

Nos bivalves marinhos, os lípidos desempenham um papel crucial na maturação dos tecidos das gónadas e constituem um componente principal do material reprodutivo (Zandee et al., 1980). Em geral, o teor de lípidos aumenta antes que ocorra a desova e, em seguida diminui (Racotta et al., 2003; Dridi et al., 2007). Os lípidos também desempenham um papel importante como reserva de energia sendo utilizados principalmente na manutenção metabólica durante os períodos de menor disponibilidade de alimento (Beninger, 1984). No entanto, no Rio Lima a percentagem de lípidos manteve-se constante ao longo das estações. Já no Rio Minho, o conteúdo de lípidos variou ao longo de todas as estações. O valor mais alto verificou-se no verão seguido do inverno, tendo sido a primavera a registar os valores mais baixos. Este valor mais elevado de lípidos no verão pode ser justificado pelo maior valor de clorofila disponível durante esta estação no Rio Lima, e no Rio Minho por um valor de clorofila relativamente alto (apesar de não ter sido tão alto quanto o registado no inverno). Ou seja, os resultados sugerem que existiu uma elevada disponibilidade de alimento no verão em ambos os rios. Visto que os valores de lípidos aumentam antes da reprodução, estes resultados reforçaram ainda mais a ideia de uma possível libertação de gâmetas por volta da primavera e outono.

Relativamente à energia e, em semelhança aos resultados já observados para os lípidos, nos Rios Lima e Minho não se observaram diferenças entre as estações do ano. Por outro lado, no Rio Minho a energia no inverno foi de 25,6%, sendo superior aos valores registados na primavera e verão. Isto pode indicar um possível aumento das reservas de energia por parte dos indivíduos de *C. fluminea* nesta estação do ano, o que corresponde também com os valores elevados de clorofila registados. Assim sendo, durante o inverno no Rio Minho a quantidade de alimento disponível poderá ter sido suficiente para satisfazer as necessidades energéticas de *C. fluminea*, deixando assim intocadas, ou até mesmo aumentando as reservas previamente armazenadas. Quando não existe um equilíbrio energético positivo, a quantidade de alimento ingerido é insuficiente para atender às demandas de energia e o

organismo utiliza as suas reservas para manter o processo reprodutivo em andamento e para atender aos requisitos dos vários processos metabólicos (Camacho et al., 2003)

Em suma, com base nos resultados deste trabalho recomenda-se a utilização do índice peso seco da parte mole/peso seco total, uma vez que provou ser mais minucioso, mostrando diferenças entre os rios e entre as estações do ano. Além disso, provou ser o mais fácil de medir e sem contar que tem uma aplicação universal. Este trabalho, também permitiu a conclusão de que as populações de *C. fluminea* nos Rios Lima e Minho são distintas no que diz respeito a algumas características ecológicas bem como à variação sazonal da sua condição fisiológica. No Rio Lima a espécie apresentou uma densidade menor (35 indivíduos/m²) e indivíduos com um comprimento maior (21,6 mm), sendo que no Rio Minho a densidade foi muito superior (232 indivíduos/m²) e os indivíduos apresentavam um comprimento menor (17,8 mm). Esta situação já era esperada e estudos anteriores já mostraram que a distribuição espacial, a densidade e a biomassa é muito superior no Rio Minho do que no Rio Lima (Sousa et al., 2006a; 2008d). Além disso, os rios apresentam diferenças nas condições ambientais, nomeadamente na clorofila, que a seguir á reprodução parece ser o parâmetro que pode mais influenciar os índices de condição biológica e a composição bioquímica. A clorofila variou entre 0,4 – 1,3 µg L⁻¹ no Rio Lima e entre 4,4 – 10,7 µg L⁻¹ no Rio Minho, sugerindo que no Rio Minho há uma maior disponibilidade de alimento. Estas diferenças na composição das populações dos diferentes rios podem ter contribuído para as diferenças sazonais e espaciais observadas nos índices de condição e na composição bioquímica. Além disso, a variabilidade no número de eventos reprodutivos para além de ser influenciada pela quantidade de alimento, pode também ser influenciada pela temperatura da água (Cataldo & Boltovskoy, 1998; Rajagopal et al., 2000; Mouthon, 2001). No Rio Lima a temperatura da água variou entre 10,3 – 18,8°C, enquanto no Rio Minho a variação foi entre 9,2 – 21,7°C. Estas diferenças ao nível da disponibilidade de alimento e da temperatura, tornam possível que os ciclos reprodutivos ocorram em períodos diferentes nos dois rios e podem ter contribuído para as diferenças observadas. Estudos futuros devem ser realizados avaliando a importância do período reprodutivo na condição das populações de *C. fluminea* em ambos os rios.

4.2. Avaliação da competição intra-específica na condição fisiológica de indivíduos de *C. fluminea*

Os resultados deste trabalho mostraram que os valores de ambos os índices de condição foram mais baixos para uma densidade de indivíduos menor (150 indivíduos/m²), aumentando na densidade intermédia (500 indivíduos/m²) e voltando a diminuir na densidade mais elevada (1000 indivíduos/m²). Estes resultados sugerem que até uma determinada densidade, neste caso até 500 indivíduos/m², é possível que exista um favorecimento ao nível da condição fisiológica dos indivíduos. Por outro lado, os resultados obtidos para a densidade 1000 indivíduos/m² indicam que para valores de densidade maiores a condição da fisiológica da espécie diminui. Isto pode ser justificado pelo fato de *C. fluminea*, sendo uma espécie engenheira de ecossistemas, ser capaz de alterar o espaço que ocupa, essencialmente através das suas elevadas taxas de filtração e consequente depósito de grandes quantidades de fezes e pseudofezes e de atividades de bioturbação. No entanto, estes efeitos são descritos na literatura como sendo claramente dependentes da densidade (Sousa et al., 2009)

Os resultados deste trabalho parecem indicar uma possível competição intra-específica em *C. fluminea* mas apenas nas densidades mais elevadas. Ou seja, esta situação parece ser dependente da densidade sendo que até 500 indivíduos/m², *C. fluminea* apresenta boas condições, e parece até beneficiar de um aumento da condição à medida que aumentámos a densidade. Na verdade, entre as densidades de 150 indivíduos/m² e 500 indivíduos/m², o maior número de indivíduos poderá ser benéfico para *C. fluminea*. Esta situação poderá estar relacionada com uma maior deposição de fezes e pseudofezes e aumento da bioturbação (podendo alterar o oxigénio no sedimento e os ciclos biogeoquímicos), levando assim a um maior enriquecimento em matéria orgânica e nutrientes (Vaughn & Hakenkamp, 2001). Estas alterações são responsáveis por aumentos na produção primária bentónica e mudanças nas comunidades de fungos e bactérias (Phelps, 1994; Yamamuro & Koike, 1994; Novais et al., 2016). Uma vez que a espécie *C. fluminea* para além de se alimentar na coluna de água (usando os sífoes para a filtração) é capaz de se alimentar da matéria orgânica disponível nos sedimentos (usando o pé para *pedal-feeding*), o aumento da densidade (até um certo limite) pode ser benéfico já que poderá aumentar a quantidade de alimento disponível. Estudos demonstraram, que quando a alimentação é por filtração existe um ganho de matéria orgânica nos sedimentos (devido à deposição de fezes e pseudo-fezes) (Hakenkamp & Palmer, 1999). Por sua vez, quando as condições favorecem o *pedal-feeding* (sem material na coluna de água para ser consumido por filtração) *C.*

fluminea consome quantidades detetáveis de material orgânico presente no sedimento por *pedal-feeding*. (Hakenkamp & Palmer, 1999)

No entanto, este estudo demonstra também que este aumento de densidade (e os processos de facilitação associados descritos acima) pode ser benéfico até um certo limite já que para densidades mais elevadas do que 500 indivíduos/m², a espécie apresenta condições menos favoráveis. Esta situação é provavelmente provocada por uma maior competição por alimento e espaço, observando-se um decréscimo na condição da espécie. Isto pode ser justificado por *C. fluminea* ser uma espécie com uma elevada taxa respiratória e precisar de um elevado consumo de matéria orgânica para suportar o seu elevado metabolismo (Hakenkamp & Palmer, 1999). Este elevado consumo de matéria orgânica juntamente com o aumento da densidade de *C. fluminea* poderá provocar uma competição por alimento entre os indivíduos. Para além disso, estudos sugerem que a espécie sob elevadas densidades pode estar associada ao decréscimo na abundância de bactérias e flagelados (Hakenkamp et al., 2001). A diminuição de bactérias no sedimento pode resultar por consumo direto via *pedal-feeding* ou através das condições abióticas via bioturbação do sedimento (Hakenkamp et al., 2001). Já a baixa abundância de flagelados pode refletir uma correlação direta entre a baixa abundância de presas (bactérias) na presença de elevadas densidades de *C. fluminea*, uma vez que os flagelados são importantes consumidores de bactéria (Bott & Kaplan, 1990). Mais uma vez, esta diminuição de flagelados e bactérias aquando de elevadas densidades de *C. fluminea*, juntamente com o elevado consumo de matéria orgânica, poderá apontar para uma competição por alimento. Adicionalmente, também poderá acontecer que à medida que aumentámos a densidade o nível de perturbação aumente, por exemplo devido à acumulação de amónia como resultado da crescente excreção de fezes e pseudofezes (Sousa et al., 2014). Contudo, mais trabalhos precisam de ser realizados de forma a perceber melhor quais os mecanismos que explicam os padrões observados no presente estudo.

5. Referências Bibliográficas

Referências bibliográficas

- Aldridge, D. C., & Muller, S. J. (2001). The Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in Britain: current status and potential impacts. *Journal of Conchology*, 37(2), 177–184.
- Alves, A. M. C. (1996). *Causas e processos da dinâmica sedimentar na evolução actual do litoral do Alto Minho*. Ph. D. thesis, University of Minho, Portugal.
- Anderson, M., Gorley, R. N., & Clarke, R. K. (2008). *Permanova+ for Primer: Guide to Software and Statistical Methods*.
- Ansell, A. D. (1972). Distribution, growth and seasonal changes in biochemical composition for the bivalve *Donax vittatus* (da Costa) from Kames Bay, Millport. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 10(2), 137–150.
- Ansell, A. D., & Trevallion, A. (1967). Studies on *Tellina tenuis* Da Costa I. Seasonal growth and biochemical cycle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1(2), 220–235.
- Araújo, R., Moreno, D., & Ramos, M. (1993). The Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774)(Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. *American Malacological Bulletin*, 10, 39–49.
- Asmus, R. M., & Asmus, H. (1991). Mussel beds: limiting or promoting phytoplankton? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 148(2), 215–232.
- Aylward, B., Bandyopadhyay, J., Belausteguigotia, J.-C., Borkey, P., Cassar, A. Z., Meadors, L., ... Tognetti, S. (2005). Freshwater ecosystem services. *Ecosystems and Human Well-Being: Policy Responses*, 3, 213–256.
- Baird, R. H. (1958). Measurement of condition in mussels and oysters. *Journal Du Conseil*, 23(2), 249–257.
- Balian, E. V, Segers, H., Lévêque, C., & Martens, K. (2008). The freshwater animal diversity assessment: an overview of the results. *Hydrobiologia*, 595(1), 627–637.
- Bayne, B. L. (1976). Aspects of reproduction in bivalve molluscs. *Estuarine Processes*, 1, 432–448.
- Beninger, P. G. (1984). Seasonal variations of the major lipid classes in relation to the reproductive activity of two species of clams raised in a common habitat: *Tapes decussatus* L.(Jeffreys, 1863) and *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 79(1), 79–90.
- Berthelin, C., Kellner, K., & Mathieu, M. (2000). Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 125(3),

359–369.

- Bij de Vaate, A., Jazdzewski, K., Ketelaars, H. A. M., Gollasch, S., & Van der Velde, G. (2002). Geographical patterns in range extension of Ponto-Caspian macroinvertebrate species in Europe. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(7), 1159–1174.
- BirdLife International. Important bird areas factsheet: Minho and Coura estuaries. (2012). Retrieved June 10, 2016, from <http://www.birdlife.org>.
- Boscolo, R., Cornello, M., & Giovanardi, O. (2003). Condition index and air survival time to compare three kinds of Manila clam *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve) farming systems. *Aquaculture International*, 11(3), 243–254.
- Bott, T. L., & Kaplan, L. A. (1990). Potential for protozoan grazing of bacteria in streambed sediments. *Journal of the North American Benthological Society*, 9(4), 336–345.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254.
- Bressan, M., & Marin, M. G. (1985). Seasonal variations in biochemical composition and condition index of cultured mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk) in the lagoon of Venice (North Adriatic). *Aquaculture*, 48(1), 13–21.
- Bruno, J. F., & Bertness, M. D. (2001). Habitat modification and facilitation in benthic marine communities. *Marine Community Ecology*, 413, 201–218.
- Byrne, R. A., & McMahon, R. F. (1994). Behavioral and physiological responses to emersion in freshwater bivalves. *American Zoologist*, 34(2), 194–204.
- Byrne, M., Phelps, H., Church, T., Adair, V., Selvakumaraswamy, P., & Potts, J. (2000). Reproduction and development of the freshwater clam *Corbicula australis* in southeast Australia. *Hydrobiologia*, 418(1), 185–197.
- Caley, P., Groves, R. H., & Barker, R. (2008). Estimating the invasion success of introduced plants. *Diversity and Distributions*, 14(2), 196–203.
- Camacho, A. P., Delgado, M., Fernández-Reiriz, M. J., & Labarta, U. (2003). Energy balance, gonad development and biochemical composition in the clam *Ruditapes decussatus*. *Marine Ecology Progress Series*, 258, 133–145.
- Carlton, J. T. (1996). Biological invasions and cryptogenic species. *Ecology*, 77(6), 1653–1655.
- Carpenter, S. R., Stanley, E. H., & Vander Zanden, M. J. (2011). State of the world's freshwater ecosystems: physical, chemical, and biological changes. *Annual Review of Environment and Resources*, 36, 75–99.

- Cataldo, D., & Boltovskoy, D. (1998). Population dynamics of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) in the Paraná river delta (Argentina). *Hydrobiologia*, 380(1–3), 153–163.
- Chainho, P., Costa, J. L., Chaves, M. L., Lane, M. F., Dauer, D. M., & Costa, M. J. (2006). Seasonal and spatial patterns of distribution of subtidal benthic invertebrate communities in the Mondego River, Portugal—a poikilohaline estuary. In *Marine Biodiversity* (pp. 59–74). Springer.
- Clavero, M., Araujo, R., Calzada, J., Delibes, M., Fernández, N., Gutiérrez-Expósito, C., ... Román, J. (2012). The first invasive bivalve in African fresh waters: invasion portrait and management options. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 22(2), 277–280.
- Clout, M. N., & Williams, P. A. (2009). *Invasive species management: a handbook of techniques*. Oxford University Press.
- Cohen, R. R. H., Dresler, P. V., Phillips, E. J. P., & Cory, R. L. (1984). The effect of the Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, on phytoplankton of the Potomac River, Maryland. *Limnology and Oceanography*, 29(1), 170–180.
- Cohen, A. N., & Carlton, J. T. (1998). Accelerating invasion rate in a highly invaded estuary. *Science*, 279(5350), 555–558.
- Connelly, N. A., O'Neill Jr, C. R., Knuth, B. A., & Brown, T. L. (2007). Economic impacts of zebra mussels on drinking water treatment and electric power generation facilities. *Environmental Management*, 40(1), 105–112.
- Cox, G. W. (1999). *Alien Species in North America and Hawaii. Impacts on Natural Ecosystems*. Island Press.
- Crespo, D., Dolbeth, M., Leston, S., Sousa, R., & Pardal, M. Â. (2015). Distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the invaded range: a geographic approach with notes on species traits variability. *Biological Invasions*, 17(7), 2087–2101.
- Crooks, J. A. (2002). Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos*, 97(2), 153–166.
- Crosby, M. P., & Gale, L. D. (1990). A review and evaluation of bivalve condition index methodologies with a suggested standard method. *Journal of Shellfish Research*, 9(1), 233–237.
- D'Antonio, C. M., Levine, J., & Thomsen, M. (2001). Propagule supply and resistance to invasion: a California botanical perspective. *Journal of Mediterranean Ecology*, 2, 233–245.
- DAISIE. (2009). European Invasive Alien Species Gateway. Retrieved February 4, 2016, from www.europe-aliens.org/
- Dare, P. J., & Edwards, D. B. (1975). Seasonal changes in flesh weight and biochemical composition of

- mussels (*Mytilus edulis* L.) in the Conwy Estuary, North Wales. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 18(2), 89–97.
- Darrigran, G. (2002). Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. *Biological Invasions*, 4(1–2), 145–156.
- Davenport, J., & Chen, X. (1987). A comparison of methods for the assessment of condition in the mussel *Mytilus*. *Journal of Molluscan Studies*, 53, 293–297.
- Davis, M. A., Grime, J. P., & Thompson, K. (2000). Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *Journal of Ecology*, 88(3), 528–534.
- Den Hartog, C., Van den Brink, F. W. B., & Van der Velde, G. (1992). Why was the invasion of the river Rhine by *Corophium curvispinum* and *Corbicula* species so successful? *Journal of Natural History*, 26(6), 1121–1129.
- Doherty, F. G., Cherry, D. S., & Cairns Jr, J. (1987). Spawning periodicity of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* in the New River, Virginia. *American Midland Naturalist*, 71–82.
- Downing, J. A., Prairie, Y. T., Cole, J. J., Duarte, C. M., Tranvik, L. J., Striegl, R. G., ... Melack, J. M. (2006). The global abundance and size distribution of lakes, ponds, and impoundments. *Limnology and Oceanography*, 51(5), 2388–2397.
- Dridi, S., Romdhane, M. S., & Elcafsi, M. (2007). Seasonal variation in weight and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental conditions of the Bizert lagoon, Tunisia. *Aquaculture*, 263(1), 238–248.
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z., Knowler, D. J., Lévêque, C., ... Stiassny, M. L. J. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, 81(2), 163–182.
- Ehrenfeld, J. G. (2010). Ecosystem consequences of biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41, 59–80.
- Ehrlich, P. R., & Pringle, R. M. (2008). Where does biodiversity go from here? A grim business-as-usual forecast and a hopeful portfolio of partial solutions. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105, 11579–11586.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). (2008). *Database on Introduction of Aquatic Species (DIAS)*. Rome, Italy. Retrieved from <http://www.fao.org/fishery/dias/1>
- Foe, C., & Knight, A. (1985). The effect of phytoplankton and suspended sediment on the growth of *Corbicula fluminea* (Bivalvia). *Hydrobiologia*, 127(2), 105–115.

- Gabbott, P. A., & Bayne, B. L. (1973). Biochemical effects of temperature and nutritive stress on *Mytilus edulis* L. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 53(2), 269–286.
- Gabbott, P. A. (1976). Energy metabolism. *Marine Mussels: Their Ecology and Physiology*, 293–355.
- Galap, C., Leboulenger, F., & Grillot, J.-P. (1997). Seasonal variations in biochemical constituents during the reproductive cycle of the female dog cockle *Glycymeris glycymeris*. *Marine Biology*, 129(4), 625–634.
- Gherardi, F., Bertolino, S., Bodon, M., Casellato, S., Cianfanelli, S., Ferraguti, M., ... Riccardi, N. (2008). Animal xenodiversity in Italian inland waters: distribution, modes of arrival, and pathways. *Biological Invasions*, 10(4), 435–454.
- Giese, A. C. (1969). A new approach to the biochemical composition of the mollusc body. *Oceanographic. Marine and. Biological. Annual. Review*, 7, 175–229.
- Gutiérrez, J. L., Jones, C. G., Strayer, D. L., & Iribarne, O. O. (2003). Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. *Oikos*, 101(1), 79–90.
- Hakenkamp, C. C., & Palmer, M. A. (1999). Introduced bivalves in freshwater ecosystems: the impact of *Corbicula* on organic matter dynamics in a sandy stream. *Oecologia*, 119(3), 445–451.
- Hakenkamp, C. C., Ribblett, S. G., Palmer, M. A., Swan, C. M., Reid, J. W., & Goodison, M. R. (2001). The impact of an introduced bivalve (*Corbicula fluminea*) on the benthos of a sandy stream. *Freshwater Biology*, 46(4), 491–501.
- Hanjra, M. A., & Qureshi, M. E. (2010). Global water crisis and future food security in an era of climate change. *Food Policy*, 35(5), 365–377.
- Hickman, R. W., & Illingworth, J. (1980). Condition cycle of the green-lipped mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. *Marine Biology*, 60(1), 27–38.
- Higgins, E. (1938). *Report of the commissioner of fisheries for the fiscal year 1938. Administrative report No. 300*. Bureau of Fisheries, Washington, DC.
- Holland, D. L. (1978). Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology*, 4, 85–123.
- Hooper, D. U., Chapin Iii, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., ... Naeem, S. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75(1), 3–35.
- Hulme, P. E., Pyšek, P., Nentwig, W., & Vilà, M. (2009). Will threat of biological invasions unite the European Union. *Science*, 324(5923), 40–41.

- Ilarri, M., & Sousa, R. (2011). *Corbicula fluminea* Müller (Asian clam). In F. A. (Ed.), *A handbook of global freshwater invasive species*. (pp. 173–183). Earthscan, London.
- Ilarri, M. I., Freitas, F., Costa-Dias, S., Antunes, C., Guilhermino, L., & Sousa, R. (2012). Associated macrozoobenthos with the invasive Asian clam *Corbicula fluminea*. *Journal of Sea Research*, 72, 113–120.
- IUCN (INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES). (2007). *2007 IUCN Red List of Threatened Species. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, Cambridge, UK*. Retrieved from www.iucnredlist.org
- Johnson, P. D., & McMahon, R. F. (1998). Effects of temperature and chronic hypoxia on survivorship of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and Asian clam (*Corbicula fluminea*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(7), 1564–1572.
- Jones, C. G., Lawton, J. H., & Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, 69, 373–386.
- Karatayev, A. Y., Burlakova, L. E., & Padilla, D. K. (2005). Contrasting distribution and impacts of two freshwater exotic suspension feeders, *Dreissena polymorpha* and *Corbicula fluminea*. In *The Comparative Roles of Suspension-feeders in Ecosystems* (pp. 239–262). Springer.
- Keller, R. P., Lodge, D. M., & Finnoff, D. C. (2007). Risk assessment for invasive species produces net bioeconomic benefits. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 104(1), 203–207.
- Kolar, C. S., & Lodge, D. M. (2001). Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(4), 199–204.
- Kolar, C. S., & Lodge, D. M. (2002). Ecological predictions and risk assessment for alien fishes in North America. *Science*, 298(5596), 1233–1236.
- Leung, B., Lodge, D. M., Finnoff, D., Shogren, J. F., Lewis, M. A., & Lamberti, G. (2002). An ounce of prevention or a pound of cure: bioeconomic risk analysis of invasive species. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 269(1508), 2407–2413.
- Li, Y., Qin, J. G., Li, X., & Benkendorff, K. (2009). Monthly variation of condition index, energy reserves and antibacterial activity in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in Stansbury (South Australia). *Aquaculture*, 286(1), 64–71.
- Lonsdale, W. M. (1999). Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology*, 80(5), 1522–1536.
- Lorenzen, C. J. (1967). Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography*, 12(2), 343–346.

- Lucas, A., & Beninger, P. G. (1985). The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44(3), 187–200.
- Mace, G. M., Cramer, W., Diaz, S., Faith, D. P., Larigauderie, A., Le Prestre, P., ... Walpole, M. (2010). Biodiversity targets after 2010. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2(1), 3–8.
- Mack, R. N., Simberloff, D., Mark Lonsdale, W., Evans, H., Clout, M., & Bazzaz, F. A. (2000). Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10(3), 689–710.
- Mackie, G. L., & Claudi, R. (2009). *Monitoring and control of macrofouling mollusks in fresh water systems*. CRC Press.
- Malmqvist, B., & Rundle, S. (2002). Threats to the running water ecosystems of the world. *Environmental Conservation*, 29(2), 134–153.
- Marin, M. G., Moschino, V., Deppieri, M., & Lucchetta, L. (2003). Variations in gross biochemical composition, energy value and condition index of *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Aquaculture*, 219(1), 859–871.
- McLusky, D. S. (1989). The Secondary Consumers Carnivores. In *The Estuarine Ecosystem* (pp. 113–132). Springer.
- McMahon, R. F. (1983). Ecology of an invasive pest bivalve, *Corbicula*. In R.-H. W.D. (Ed.), *The Mollusca: Ecology* (Vol. 6, pp. 505–561). Academic Press, Orlando.
- McMahon, R. F. (2000). Invasive characteristics of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. In C. R. & L. J. (Eds.), *Nonindigenous freshwater organisms: Vectors, biology, and impacts*. (pp. 315–343). Lewis Publishers, Boca Raton.
- McMahon, R. F. (2002). Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: r selection versus resistance. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(7), 1235–1244.
- Minchin, D. (2007). A checklist of alien and cryptogenic aquatic species in Ireland. *Aquatic Invasions*, 2(4), 341–366.
- Molnar, J. L., Gamboa, R. L., Revenga, C., & Spalding, M. D. (2008). Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(9), 485–492.
- Morais, P., Teodósio, J., Reis, J., Chicharo, A., & Chicharo, L. (2009). The Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the Guadiana River Basin (southwestern Iberian Peninsula): setting the record straight. *Aquatic Invasions*, 4(4), 681–684.
- Mota, M., Sousa, R., Bio, A., Araújo, J., Braga, C., & Antunes, C. (2014). Seasonal changes in fish

- assemblages in the River Minho tidal freshwater wetlands, NW of the Iberian Peninsula. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 50, 185–198.
- Mouthon, J. (1981). Sur la présence en France et au Portugal de *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidae) originaire d'Asie. *Basteria*, 45, 109–116.
- Mouthon, J. (2001). Life cycle and population dynamics of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Saone River at Lyon (France). *Hydrobiologia*, 452(1–3), 109–119.
- Muirhead, J. R., & MacIsaac, H. J. (2005). Development of inland lakes as hubs in an invasion network. *Journal of Applied Ecology*, 42(1), 80–90.
- Nagel, K. O. (1989). Ein weiterer Fundort von *Corbicula fluminalis* (Müller 1774) (Mollusca: Bivalvia) in Portugal. *Mitteilungen Der Deutschen Malakozoologischen Gesellschaft*, 17, 44–45.
- Novais, A., Souza, A. T., Ilarri, M., Pascoal, C., & Sousa, R. (2015). Facilitation in the low intertidal: effects of an invasive species on the structure of an estuarine macrozoobenthic assemblage. *Marine Ecology Progress Series*, 522, 157–167.
- Novais, A., Souza, A. T., Ilarri, M., Pascoal, C., & Sousa, R. (2016). Effects of the invasive clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) on an estuarine microbial community. *Science of the Total Environment*, 566, 1168–1175.
- Olden, J. D. (2006). Biotic homogenization: a new research agenda for conservation biogeography. *Journal of Biogeography*, 33(12), 2027–2039.
- Orban, E., Di Lena, G., Nevigato, T., Casini, I., Marzetti, A., & Caproni, R. (2002). Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. *Food Chemistry*, 77(1), 57–65.
- Ormerod, S. J., Dobson, M., Hildrew, A. G., & Townsend, C. R. (2010). Multiple stressors in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology*, 55(s1), 1–4.
- Pérez-Quintero, J. C. (2007). Diversity, habitat use and conservation of freshwater molluscs in the lower Guadiana River basin (SW Iberian Peninsula). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 17(5), 485–501.
- Pérez-Quintero, J. C. (2008). Revision of the distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1744) in the Iberian Peninsula. *Aquatic Invasions*, 3(3), 355–358.
- Phelps, H. L. (1994). The Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) invasion and system-level ecological change in the Potomac River estuary near Washington, DC. *Estuaries*, 17(3), 614–621.
- Pigneur, L.-M., Marescaux, J., Roland, K., Etoundi, E., Descy, J.-P., & Van Doninck, K. (2011). Phylogeny and androgenesis in the invasive *Corbicula* clams (Bivalvia, Corbiculidae) in Western

- Europe. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), 147.
- Pimentel, D., Lach, L., Zuniga, R., & Morrison, D. (2000). Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *BioScience*, 50(1), 53–65.
- Pogoda, B., Buck, B. H., & Hagen, W. (2011). Growth performance and condition of oysters (*Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis*) farmed in an offshore environment (North Sea, Germany). *Aquaculture*, 319(3), 484–492.
- Prokopovich, N. P., & Hebert, D. J. (1965). Sedimentation in the Delta-Mendota Canal. *Journal (American Water Works Association)*, 375–382.
- Pyšek, P., & Richardson, D. M. (2008). Traits associated with invasiveness in alien plants: where do we stand? In *Biological invasions* (pp. 97–125). Springer.
- Racotta, I. S., Ramirez, J. L., Ibarra, A. M., Rodriguez-Jaramillo, M. C., Carreño, D., & Palacios, E. (2003). Growth and gametogenesis in the lion-paw scallop *Nodipecten (Lyropecten) subnodosus*. *Aquaculture*, 217(1), 335–349.
- Rahel, F. J. (2002). Homogenization of freshwater faunas. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 291–315.
- Rajagopal, S., Van der Velde, G., & De Vaate, A. B. (2000). Reproductive biology of the Asiatic clams *Corbicula fluminalis* and *Corbicula fluminea* in the river Rhine. *Archiv Für Hydrobiologie*, 149(3), 403–420.
- Raymond, P. A., Hartmann, J., Lauerwald, R., Sobek, S., McDonald, C., Hoover, M., ... Humborg, C. (2013). Global carbon dioxide emissions from inland waters. *Nature*, 503(7476), 355–359.
- Reis, J. (2006). *Atlas dos Bivalves de água doce em Portugal continental*. Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.
- Ricciardi, A., & MacIsaac, H. J. (2008). Evaluating the Effectiveness of Ballast Water Exchange Policy in the Great Lakes. *Ecological Applications*, 18(5), 1321–1323.
- Richardson, D. M., & Pyšek, P. (2006). Plant invasions: merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Progress in Physical Geography*, 30(3), 409–431.
- Richardson, D. M., & Pyšek, P. (2008). Fifty years of invasion ecology—the legacy of Charles Elton. *Diversity and Distributions*, 14(2), 161–168.
- Rockström, J., Steffen, W. L., Noone, K., Persson, Å., Chapin III, F. S., Lambin, E., ... Schellnhuber, H. J. (2009). Planetary boundaries: exploring the safe operating space for humanity. *Ecological Society*, 14, 32.
- Roditi, H. A., Strayer, D. L., & Findlay, S. E. G. (1997). Characteristics of zebra mussel (*Dreissena*

- polymorpha*) biodeposits in a tidal freshwater estuary. *Archiv Für Hydrobiologie*, 140(2), 207–219.
- Rosa, I. C., Pereira, J. L., Gomes, J., Saraiva, P. M., Gonçalves, F., & Costa, R. (2011). The Asian clam *Corbicula fluminea* in the European freshwater-dependent industry: A latent threat or a friendly enemy? *Ecological Economics*, 70(10), 1805–1813.
- Royer, J., Segueineau, C., Park, K.-I., Pouvreau, S., Choi, K.-S., & Costil, K. (2008). Gametogenetic cycle and reproductive effort assessed by two methods in 3 age classes of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, reared in Normandy. *Aquaculture*, 277(3), 313–320.
- Ruddy, G. M., Feng, S. Y., & Campbell, G. S. (1975). The effect of prolonged exposure to elevated temperatures on the biochemical constituents, gonadal development and shell deposition of the American oyster, *Crassostrea virginica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 51(2), 157–164.
- Ruiz, G. M., Fofonoff, P. W., Carlton, J. T., Wonham, M. J., & Hines, A. H. (2000). Invasion of coastal marine communities in North America: apparent patterns, processes, and biases. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 481–531.
- Sala, O. E., Chapin, F. S., Armesto, J. J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., ... Kinzig, A. (2000). Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287(5459), 1770–1774.
- Schlaepfer, M. A., Sax, D. F., & Olden, J. D. (2011). The potential conservation value of non-native species. *Conservation Biology*, 25(3), 428–437.
- Shafee, M. S. (1978). Variations in biochemical composition of the green mussel *Perna viridis* Linnaeus of ennore estuary, Madras. *Mahasagar*, 11(1–2), 101–104.
- Simberloff, D. (2005). Non-native species do threaten the natural environment! *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 18(6), 595–607.
- Simberloff, D. (2011). How common are invasion-induced ecosystem impacts? *Biological Invasions*, 13(5), 1255–1268.
- Simberloff, D., Martin, J.-L., Genovesi, P., Maris, V., Wardle, D. A., Aronson, J., ... Pascal, M. (2013). Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(1), 58–66.
- Smaal, A. C., & Van Stralen, M. R. (1990). Average annual growth and condition of mussels as a function of food source. In *North Sea—Estuaries Interactions* (pp. 179–188). Springer.
- Sousa, R., Guilhermino, L., & Antunes, C. (2005). Molluscan fauna in the freshwater tidal area of the River Minho estuary, NW of Iberian Peninsula. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 41, 141–147.

- Sousa, R., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2006a). Factors influencing the occurrence and distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the River Lima estuary. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 42(3), 165–171.
- Sousa, R., Dias, S., & Antunes, J. C. (2006b). Spatial subtidal macrobenthic distribution in relation to abiotic conditions in the Lima estuary, NW of Portugal. *Hydrobiologia*, 559(1), 135–148.
- Sousa, R., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2007). Species composition and monthly variation of the Molluscan fauna in the freshwater subtidal area of the River Minho estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 75(1), 90–100.
- Sousa, R., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2008a). Ecology of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in aquatic ecosystems: an overview. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, 44(2), 85–94.
- Sousa, R., Nogueira, A. J. A., Gaspar, M. B., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2008b). Growth and extremely high production of the non-indigenous invasive species *Corbicula fluminea* (Müller, 1774): possible implications for ecosystem functioning. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 80(2), 289–295.
- Sousa, R., Nogueira, A. J. A., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2008c). Growth and production of *Pisidium amnicum* in the freshwater tidal area of the River Minho estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 79(3), 467–474.
- Sousa, R., Rufino, M., Gaspar, M., Antunes, C., & Guilhermino, L. (2008d). Abiotic impacts on spatial and temporal distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the River Minho Estuary, Portugal. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18(1), 98–110.
- Sousa, R., Dias, S. C., Guilhermino, L., & Antunes, C. (2008e). Minho River tidal freshwater wetlands: threats to faunal biodiversity. *Aquatic Biology*, 3(3), 237–250.
- Sousa, R., Gutiérrez, J. L., & Aldridge, D. C. (2009). Non-indigenous invasive bivalves as ecosystem engineers. *Biological Invasions*, 11(10), 2367–2385.
- Sousa, R., Morais, P., Dias, E., & Antunes, C. (2011). Biological invasions and ecosystem functioning: time to merge. *Biological Invasions*, 13(5), 1055–1058.
- Sousa, R., Novais, A., Costa, R., & Strayer, D. L. (2014). Invasive bivalves in fresh waters: impacts from individuals to ecosystems and possible control strategies. *Hydrobiologia*, 735(1), 233–251.
- Strayer, D. L. (1999). Effects of alien species on freshwater mollusks in North America. *Journal of the North American Benthological Society*, 74–98.

- Strayer, D. L. (2006). Challenges for freshwater invertebrate conservation. *Journal of the North American Benthological Society*, 25(2), 271–287.
- Strayer, D. L. (2008). *Freshwater mussel ecology: a multifactor approach to distribution and abundance* (Vol. 1). Univ of California Press, Berkeley, California.
- Strayer, D. L. (2010). Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshwater Biology*, 55(s1), 152–174.
- Strayer, D. L., & Dudgeon, D. (2010). Freshwater biodiversity conservation: recent progress and future challenges. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(1), 344–358.
- Strayer, D. L. (2012). Eight questions about invasions and ecosystem functioning. *Ecology Letters*, 15(10), 1199–1210.
- Tatem, A. J., Hay, S. I., & Rogers, D. J. (2006). Global traffic and disease vector dispersal. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 103(16), 6242–6247.
- Van Kleunen, M., Weber, E., & Fischer, M. (2010). A meta-analysis of trait differences between invasive and non-invasive plant species. *Ecology Letters*, 13(2), 235–245.
- Vaughn, C. C., & Hakenkamp, C. C. (2001). The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology*, 46(11), 1431–1446.
- Vilà, M., Basnou, C., Pyšek, P., Josefsson, M., Genovesi, P., Gollasch, S., ... Roy, D. (2009). How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8(3), 135–144.
- Vitousek, P. M., Antonio, C. M. D., Loope, L. L., & Westbrooks, R. (1996). Biological invasions as global environmental change. *American Scientist*, 84(5), 468–478.
- Walne, P. R., & Mann, R. (1975). Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In Barnes, H. (Ed.), *9th European Marine Biology Symposium* (pp. 587–607).
- Werner, S., & Rothhaupt, K.-O. (2007). Effects of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* on settling juveniles and other benthic taxa. *Journal of the North American Benthological Society*, 26(4), 673–680.
- Williams, C. J., & McMahon, R. F. (1989). Annual variation of tissue biomass and carbon and nitrogen content in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* relative to downstream dispersal. *Canadian Journal of Zoology*, 67(1), 82–90.
- Woodward, G. (2009). Biodiversity, ecosystem functioning and food webs in fresh waters: assembling the jigsaw puzzle. *Freshwater Biology*, 54(10), 2171–2187.
- Woodward, G., Perkins, D. M., & Brown, L. E. (2010). Climate change and freshwater ecosystems:

impacts across multiple levels of organization. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1549), 2093–2106.

Yamamuro, M., & Koike, I. (1994). Diel changes of nitrogen species in surface and overlying water of an estuarine lake in summer: Evidence for benthic-pelagic coupling. *Limnology and Oceanography*, 39(7), 1726–1733.

Zandee, D. I., Kluytmans, J. H., Zurburg, W., & Pieters, H. (1980). Seasonal variations in biochemical composition of *Mytilus edulis* with reference to energy metabolism and gametogenesis. *Netherlands Journal of Sea Research*, 14(1), 1–29.